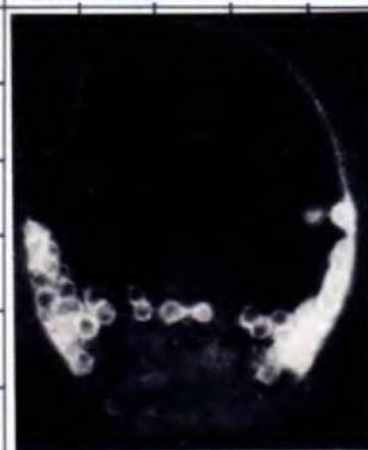


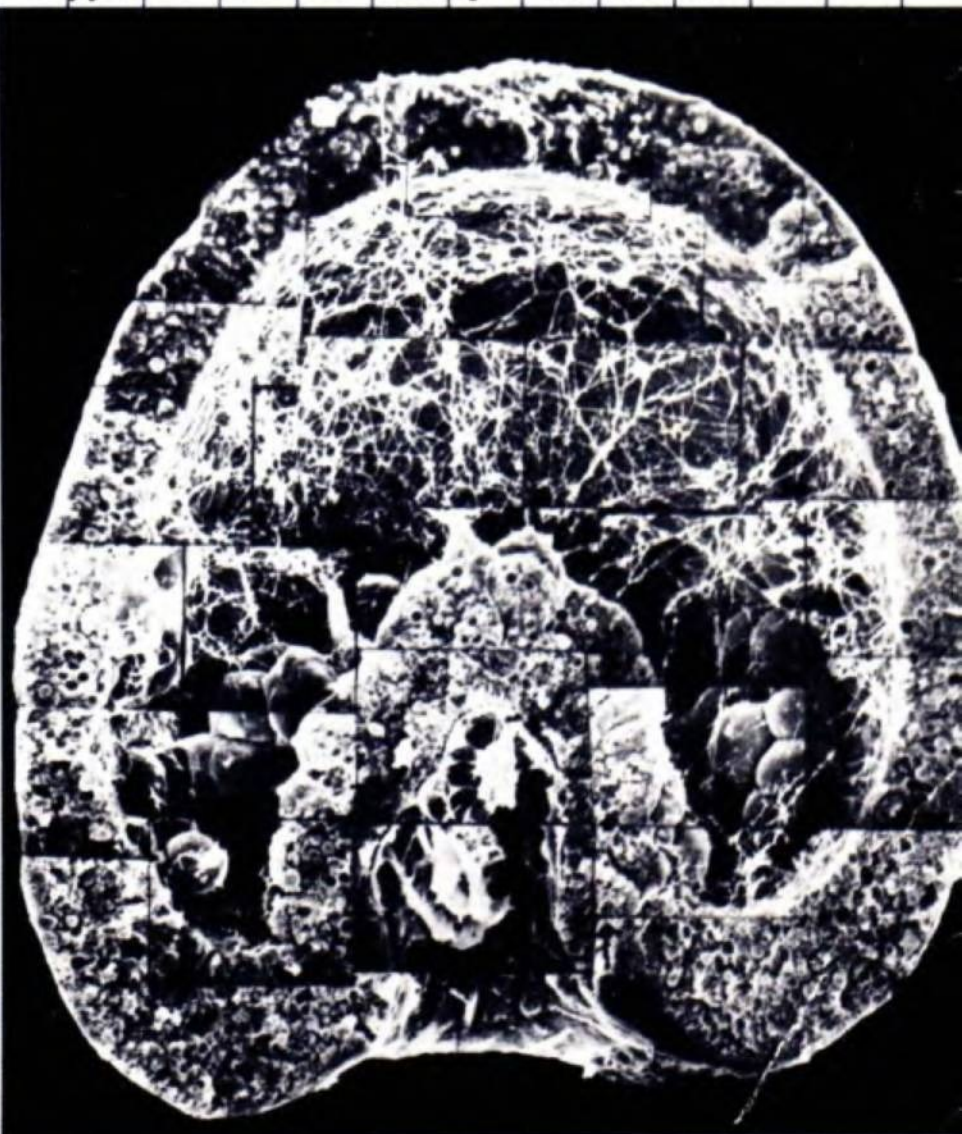
С. Гилберт

БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ

Издательство «Мир» Москва



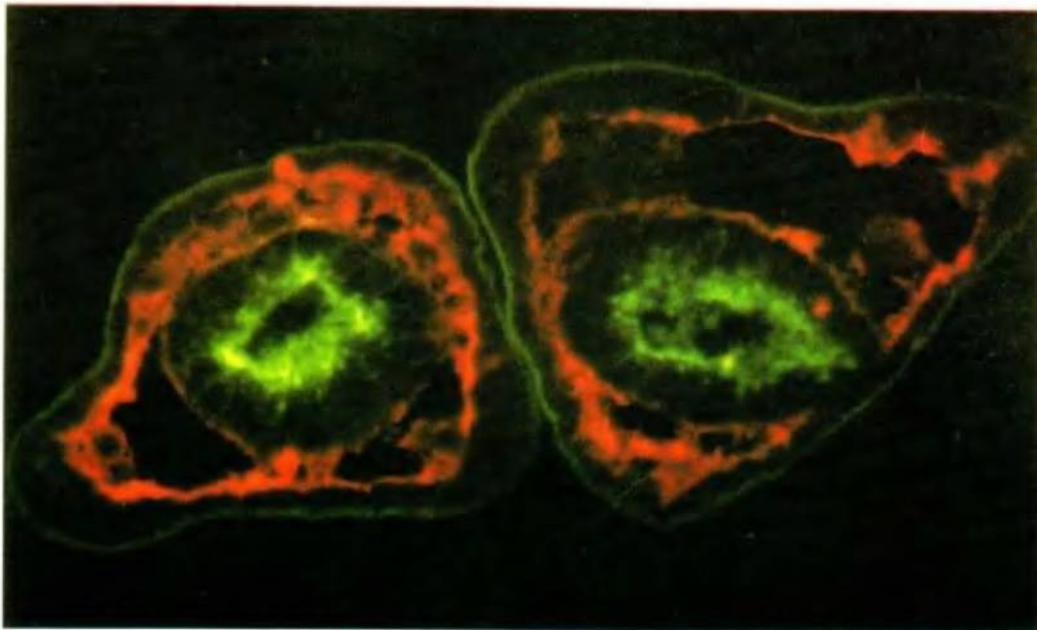
3





Гинандроморфы у бабочек

Половой мозаик (гинандроморф у бабочки *Io*) отчетливо делится на две половины: розовато-коричневую женскую и желтую с менее крупными крыльями – мужскую. Появление таких половых мозаиков обусловлено тем, что одна из двух X-хромосом утрачивается на ранней стадии митотического деления. Глава 21. (Фотография Т. R. Maxley с любезного разрешения „The Journal of Heredity“.)



Тканеспецифические различия клеточных мембран

Не все клеточные мембраны одинаковы. Способность клеток изменять свое положение в зародыше часто рассматривают как следствие изменений, происходящих на клеточной поверхности. На приведенной фотографии видно, что некий белок (окрашенный в красный цвет с помощью флуоресцирующих антител) экспрессируется на поверхности только тех клеток, которым предстоит образовать скелетные элементы личинки морского ежа. Другие компоненты клеточной поверхности (окрашенные в зеленый цвет) обнаруживаются только на клетках, образующих кишку личинки. Фотография сделана со среза, перпендикулярного дорсовентральной оси личинки. Главы 4 и 15. (Фотография с любезного разрешения G. Wessell.)

БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ

Developmental Biology

Second Edition

SCOTT F. GILBERT

SWARTHMORE COLLEGE



Sinauer Associates, Inc. • Publishers
Sunderland, Massachusetts

С. Гилберт

БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ

В 3-х томах

Перевод с английского
д-ра биол. наук А. И. Иванова
канд. биол. наук Д. Г. Полтевой
Н. О. Фоминой

под редакцией
д-ра биол. наук С. Г. Васецкого

3



«Мир» Москва
1995

ББК 28.0
Г47
УДК 57

Гилберт С.

Г47 Биология развития: В 3-х т. Т. 3: Пер. с англ. – М.: Мир, 1995. – 352 с., ил.
ISBN 5-03-001833-6

Фундаментальное учебное и справочное пособие по относительно новой, быстро развивающейся дисциплине – биологии развития. На русском языке выходит в 3-х томах. В третьем томе рассматриваются клеточные взаимодействия в процессе развития. В этот том внесены изменения, подготовленные автором для 3-го английского издания (1991 г.)

Для эмбриологов, молекулярных биологов, а также студентов биологических факультетов.

ББК 28.0

Редакция литературы по биологии

Издание выпущено в счет дотации, выделенной Комитетом РФ по печати

ISBN 5-03-001833-6 (русс.)
ISBN 5-03-001830-1
ISBN 0-87893-248-8 (англ.)

© 1988, 1991 by Sinauer Associates, Inc.
© перевод на русский язык,
А. И. Иванов, Д. Г. Полтева,
Н. О. Фомина, 1995

Клеточные взаимодействия в развитии

Глава 15

Пространственная упорядоченность клеток: роль клеточной поверхности

Но природа не расчленена на атомы. Ей изначально присуща организация, в ней очевиден порядок, лежащий в основе красоты; более того, человеческий разум способен постигать ее только потому, что он сам — неотъемлемая часть этого порядка.

ПАУЛЬ ВЕЙС (1960)

Спаслю Тебя, потому что я дивно устроен.

ПСАЛОМ 138

Введение

Организм — это не просто собрание случайно расположенных клеток различных типов, и развитие заключается не только в дифференцировке клеток, но и в их пространственной организации в многоклеточные структуры (ткани и органы), называемой морфогенезом. Подробно изучая такие ткани, как сетчатка, мы встречаемся со сложным и четким пространственным распределением целого ряда клеточных типов. В последующих шести главах мы рассмотрим пути изменения клеток развивающегося зародыша, которые приводят к созданию функциональных органов тела. Обсуждение морфогенеза можно ограничить пятью основными вопросами.

1. Как из клеток формируются ткани? Почечный эпителий, например, образует плотную трубку из клеток с мощной базальной мембраной для фильтрации крови. Каким образом эти клетки скреплены вместе?
2. Как ткани объединяются в органы? Эпителиальные клетки почечных канальцев должны образовать трубку, окруженную мезенхимой. Именно такая организация почечных канальцев обеспечивает ток мочи и ресорбцию: будь они заполнены соединительной тканью, они не смогли бы функционировать. Кроме того, фильтрующие единицы почки должны быть как-то соединены с мочеточником, по которому моча поступает в мочевой пузырь. Все эти связи требуют строгой упорядоченности.
3. Почему органы возникают в строго определенном, соответствующем для них месте? Почки, например, симметрично распола-

гаются в дорсальной части брюшной полости. Они не развиваются в голове или в конечностях.

4. Каким образом мигрирующие клетки достигают конечного пункта своей миграции? Половые клетки позвоночных образуются не в гонадах. Что заставляет их следовать определенным маршрутом и прекратить миграцию по достижении области формирующейся гонады?
5. Как происходит рост органов и составляющих их клеток; как скоординирован этот рост в процессе развития? Скорость роста почки у новорожденного и взрослого человека неодинакова. Вместе с тем клетки — предшественники форменных элементов крови делятся в течение всей жизни человека примерно с той же скоростью, что и у плода. Какие факторы контролируют эти различия в скорости роста?

Все эти вопросы касаются аспектов поведения клеток. В самом деле, принято считать, что морфогенез происходит благодаря осуществлению относительно ограниченного набора процессов, происходящих на клеточном уровне: 1) направления и числа клеточных делений; 2) изменения формы клеток; 3) миграции клеток; 4) их роста; 5) гибели и, наконец, 6) изменений в составе клеточной мембраны и внеклеточного матрикса. О некоторых из перечисленных процессов мы уже упоминали, особенно при изучении гаструляции — одного из важнейших морфогенетических событий в жизни раннего зародыша.

Существуют, по-видимому, два основных способа, посредством которых клетки, взаимодействуя друг с другом, влияют на морфогенез. В основе первого лежит секреция клетками одного типа способных к диффузии веществ, изменяющих поведение клеток других типов. Эти вещества представлены гормонами, факторами роста и морфогенами (более подробно они будут описаны в гл. 19 и 20). Их молекулы координируют морфогенетическую активность всего организма. В основе второго способа, ответственного прежде всего за создание специфических тканей и органов, лежит взаимодействие между клеточными поверхностями соседних клеток. В процессе органогенеза отдельные клетки или группы клеток меняют свое относительное положение и вступают во взаимодействие с клетками других типов. Избирательное взаимодействие между соседствующими клетками приводит к тому, что клетки разных типов располагаются строго упорядоченным образом, формируя различные ткани и органы.

Следовательно, клетки должны обладать способностью к избирательному узнаванию других клеток, прикрепляясь к одним и мигрируя по поверхности других. Молекулярные события, обуславливающие избирательное узнавание клеток и их организацию в ткани и органы, происходят на клеточной поверхности. В этой главе мы рассмотрим пути взаимодействия клеточных поверхностей в ходе развития, приводящего к тому, что клетки

надлежащим образом оказываются локализованными в соответствующих тканях и органах.

Дифференциальное сродство клеток

Стационарные культуры

Начало современному анализу морфогенеза было положено экспериментами Таунса и Гольфрета в 1955 г. Используя способность тканей зародышей амфибий диссоциировать на отдельные клетки в щелочной среде, эти исследователи приготовили суспензии одиночных клеток каждого из трех зародышевых листков и тканей нейрулы. Две или более таких суспензий можно комбинировать в разных сочетаниях; после нормализации pH клетки прилипают друг к другу, формируя агрегаты на агаре, покрывающем дно чашки Петри. Используя зародышей разных видов, клетки которых различались по размерам и окраске, Таунсу и Гольфрету удалось проследить поведение реаггированных клеток (рис. 15.1).

Результаты экспериментов оказались поразительными. Во-первых, исследователи обнаружили, что диссоциированные клетки способны к пространственной сегрегации. Иными словами, происходит **рассортировка** смешанных клеток, и клетки каждого типа занимают соответствующую область. Так, в агрегате, образованном эпидермальными и мезодермальными клетками, эпидермальные клетки

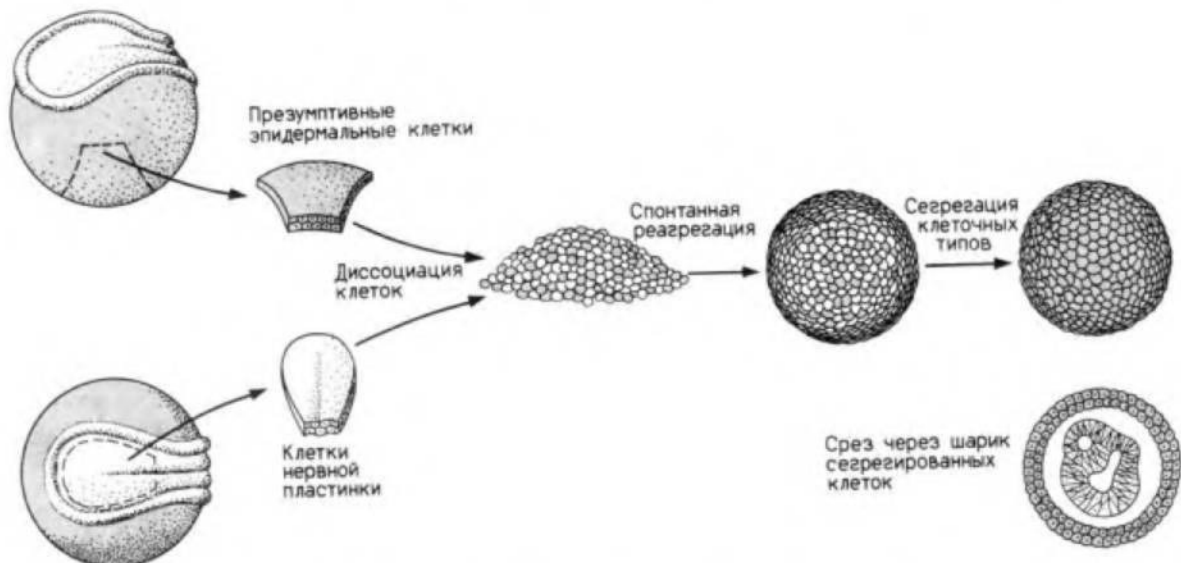


Рис. 15.1. Реагрегация клеток нейрулы амфибий. Смешивают презумптивные эпидермальные клетки пигментированных зародышей и клетки нервной пластинки непигментированных зародышей. Реагрегация происходит таким образом, что клетки одного типа (в данном случае презумптивного эпидермиса) покрывают клетки другого типа. (По Townes, Holtfreter, 1955.)

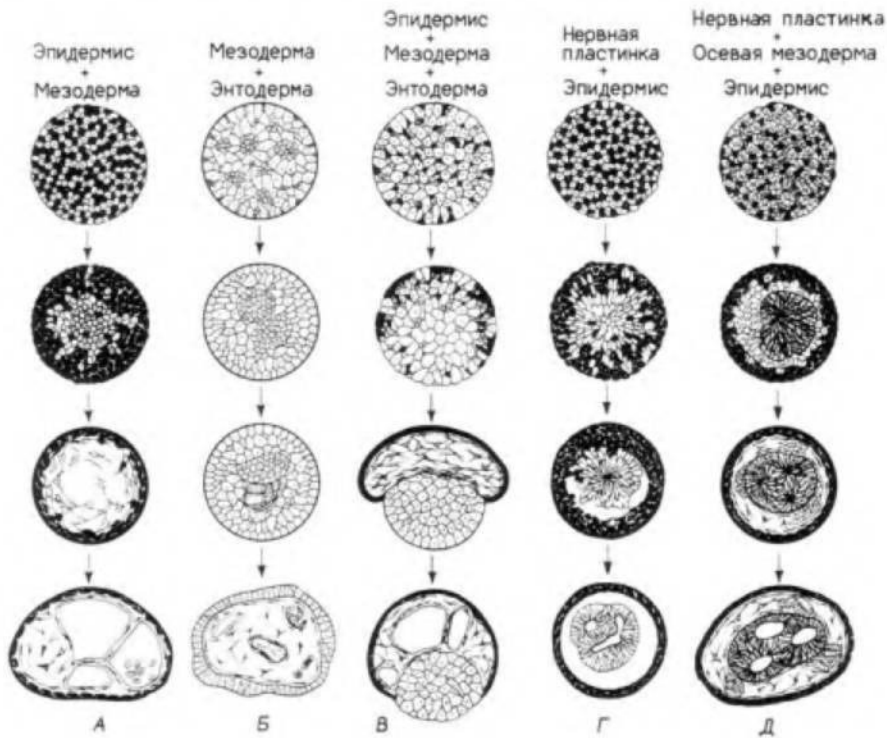


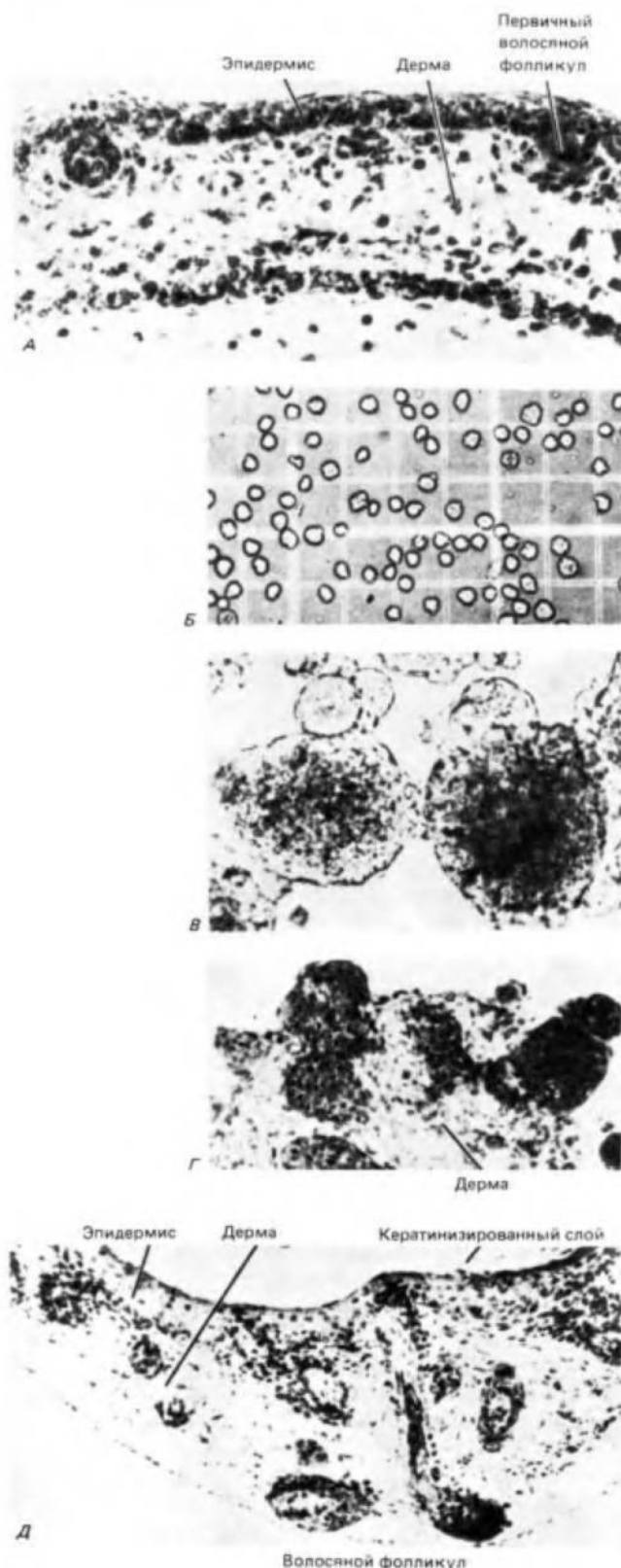
Рис. 15.2. Рассортировка и реорганизация пространственных отношений в агрегатах зародышевых клеток амфибии. Объяснения см. в тексте. (По Townes, Holtfreter, 1955.)

оказываются на периферии агрегата, а мезодермальные внутри. Ни в одном из случаев в образовавшихся агрегатах клетки не располагались беспорядочно. В большинстве случаев клетки одного типа окружали клетки другого.

Во-вторых, Таунс и Гольфретер обнаружили, что окончательное положение reagregировавших клеток отражает их положение в зародыше. Как мы уже видели, мезодерма занимает центральное положение по отношению к эпидермису, прилипая к его внутренней поверхности (рис. 15.2, А). Мезодерма мигрирует к центру и по отношению к энтодерме (рис. 15.2, Б). Однако в том случае, когда смешивают клетки всех трех зародышевых листков (рис. 15.2, В), энтодерма отделяется от эктодермы и мезодермы, которые затем ее окружают. В окончательной конфигурации эктодерма располагается по периферии агрегата, энтодерма оказывается внутри, а мезодерма между ними. Гольфретер назвал это явление **избирательным сродством**. Внутренняя поверхность эктодермы имеет положительное сродство к мезодермальным клеткам и отрицательное сродство к энтодерме. Мезодерма обладает положительным сродством и к эктодермальным, и к энтодермальным клеткам. Сходство в расположении клеток в агрегате и в нормальном зародыше проявляется также и при reagрегации клеток эпидермиса и нервной пластинки (рис. 15.2, Г). Как и прежде, презумптивные эпидермальные клетки мигрируют на периферию, а клетки нервной пластинки перемешаются внутрь, образуя структуру, напоминающую нервную трубку. Если к суспензии презумптивных эпидермальных клеток и клеток нервной пластинки добавить клетки осевой мезодермы, то в результате сегрегации клеток образуется наружный слой эпидермиса, центрально расположенная нервная ткань и слой сомитов и мезенхимы между ними (рис. 15.2, Д). Как бы то ни было, клетки способны сортироваться в соответствии со своим истинным положением в зародыше. Такое предпочтительное сродство отмечал также Буко (Boucaut, 1974), который инъецировал клетки того или иного зародышевого листка в бластоцель зародышей амфибий; инъецированные клетки мигрировали в соответствующий зародышевый листок: энтодермальные клетки — в энтодерму хозяина, а эктодермальные — только в его эктодерму. Таким образом, избирательное сродство играет важную роль в передаче позиционной информации клеткам зародыша.

Третий вывод, к которому пришли Гольфретер и его сотрудники, заключался в том, что в процессе развития избирательное сродство меняется. Этого следовало ожидать, поскольку связь между соседними клетками зародыша не остается постоянной. Для нормального развития необходимо, чтобы в определенные периоды времени осуществлялось дифференциальное взаимодействие клеток одной

и его сотрудники, заключался в том, что в процессе развития избирательное сродство меняется. Этого следовало ожидать, поскольку связь между соседними клетками зародыша не остается постоянной. Для нормального развития необходимо, чтобы в определенные периоды времени осуществлялось дифференциальное взаимодействие клеток одной



популяции с клетками другой. Это явление убедительно подтвердил Тринкаус (Trinka, 1963), показавший четкую корреляцию между изменением способности клеток прилипать друг к другу (т.е. их адгезией) и изменениями в их поведении. У костистых рыб в начале гаструляции пограничные клетки дискоидальных зародышей уплощаются и плотно прикрепляются к цитоплазматической поверхности яйца, сокращение которой обуславливает перемещение бластодермы к вегетативному полюсу яйца. Тринкаус обнаружил, что клетки, изолированные со стадии *бластулы*, не прилипают к искусственному субстрату, тогда как те же клетки *гаструлирующего* зародыша прикрепляются к поверхности. Более того, если клетки бластулы культивировать в течение времени, необходимого для начала гаструляции, то они начинают уплощаться и прилипают к искусственному субстрату, т.е. ведут себя так, как если бы они были в составе интактного зародыша.

Ротационные культуры

Агрегаты клеток зародышей птиц и млекопитающих более поздних стадий развития впервые получил Москона, воспользовавшись двумя методическими приемами. Во-первых, для диссоциации клеток он применил трипсин (Moscona, 1952). Расщепляя белки клеточной поверхности и белки межклеточного матрикса, этот фермент разрушает многочисленные связи, соединяющие клетки друг с другом. Во-вторых, он использовал методику ротационной агрегации (Moscona, 1961). Эта методика не позволяла клеткам оседать на дно культурального сосуда (к которому они имеют малое сродство или не имеют его вовсе), поскольку содержимое сосуда с культивируемыми в нем клетками острожно перемешивали. В таких условиях клетки агрегировали, если силы адгезии, удерживающие их вместе, были выше, чем гидростатические силы, стремящиеся их разъединить. В первоначальном агрегате клетки располагались случайным образом, однако затем в результате миграции происходила их рассортировка в соответствии с принадлежностью к тому или иному клеточному типу. Иными словами, строение агрегатов уподоблялось строе-

Рис. 15.3. Реконструкция кожи из суспензии клеток кожи 15-дневного зародыша мыши. А. Срез кожи зародыша. На срезе видны эпидермис, дерма и первичный волосной фолликул. Б. Суспензия единичных клеток кожи, полученная из дермы и эпидермиса. В. Агрегаты спустя 24 ч. Г. Срез через агрегат, на котором видна миграция эпидермальных клеток на периферию. Д. Дальнейшее развитие агрегата (72 ч), показывающее восстановленный эпидермис и дерму с волосными фолликулами и кератинизированным слоем. (Из Monroy, Moscona, 1979; фотографии с любезного разрешения А. Moscona.)

нию исходной ткани. На рис. 15.3 представлена «реконструкция» ткани кожи 15-дневного зародыша мыши. Клетки кожи разделяли протеолитическими ферментами и помещали в ротационную культуру для образования агрегатов. В образовавшихся агрегатах эпидермальные клетки мигрировали к периферии, а клетки дермы – к центру. Через 72 ч происходила реконституция эпидермиса, формировался кератиновый слой, в области дермы были видны волосные фолликулы. Таким образом, процедура агрегации позволяет индивидуальным клеткам восстановить ткань. В аналогичных экспериментах одиночные клетки в суспензии из зародышевой почки reagregировали с образованием канальцев, а клетки сетчатки, объединяясь, формировали нейральную сетчатку. Такое восстановление сложных тканей из единичных клеток называют **гистотипической агрегацией**. Следовательно, клетки зародышевых органов сохраняют морфогенетическую информацию, что дает им возможность вновь формировать тканевую и органоспецифические структуры.

У некоторых видов из суспензии единичных клеток может вновь возникнуть целый организм. Диссоциированные бластомеры морского ежа могут reagregировать с образованием бластулуподобных структур, которые затем способны развиваться в нормальных личинок – плутеусов (рис. 15.4) (Giudice, 1962; Spiegel, Spiegel, 1975). Для этого необходимо

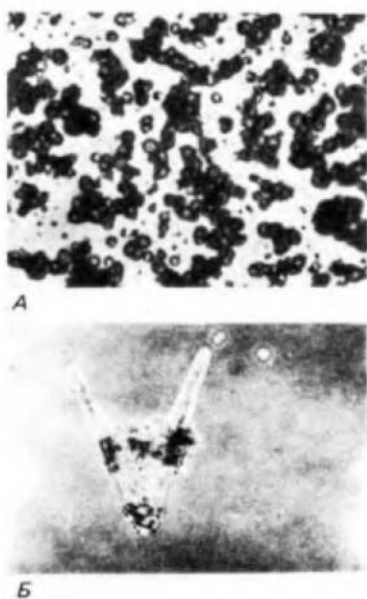


Рис. 15.4. Агрегация бластомеров диссоциированного 16-клеточного зародыша морского ежа *Arbacia punctulata*. А. Диссоциированные клетки. Б. Реконструированная личинка плутеус через 25 ч после начала агрегации. (Из Spiegel, Spiegel, 1975; фотографии с любезного разрешения авторов.)

присутствие всех трех типов клеток (микромеров, макромеров и мезомеров), что свидетельствует о невозможности возврата клеток к дедифференцированному состоянию и последующей редифференцировке в соответствии с их новым положением (Spiegel, Spiegel, 1975).

Если основной парадигмой генетики развития является дифференциальная экспрессия генов, то в случае морфогенеза парадигма основана на **дифференциальном сродстве клеток**.

Изменение специфического сродства клеток и их миграция у зародышей морского ежа

Разнообразные события в развитии и особенно события, связанные с направленными перемещениями клеток, объясняют изменением сродства клеточных поверхностей. Так, в гл. 4, например, описывались эксперименты (Fink, McClay, 1985), свидетельствующие о том, что во время ранней гаструляции происходит изменение сродства клеток-предшественников первичной мезенхимы. В начале гаструляции эти клетки утрачивают сродство к соседним клеткам и внеклеточному гиалиновому слою и одновременно приобретают сродство к волокнам фибронектина, выстилающим бластоцель. На более поздних этапах гаструляции эти клетки приобретают способность мигрировать к определенной части стенки бластоцели. Кроме того, будучи «антисоциальными» по отношению друг к другу со времени ингрессии в бластоцель, теперь они начинают объединяться в синцитий и формировать мезодермальное кольцо вокруг инвагинирующей энтодермы. Эти изменения адгезионных свойств характеризуются временной специфичностью и специфичностью в отношении клеток первичной мезенхимы (McClay, Ettensohn, 1987). Изменение сродства клеток приобретает исключительную важность для процессов морфогенеза.

Способы клеточной миграции

Подвижная клетка (как и бесцельно движущаяся особь) едва ли в течение какого-то времени покинет свое исходное местоположение и удалится от него на значительное расстояние, если условия существования не вынудят ее перемещаться в определенном направлении. Каков же механизм, позволяющий клеткам мигрировать в те или иные области зародыша? Дальние миграции могут быть обусловлены хемотаксисом, гаптотаксисом, гальванотаксисом и контактным ориентированием. Ближние взаимодействия (ответственные, например, за взаимодействие клеток при формировании органов) могут быть обусловлены контактным ингибированием и термодинамическими взаимодействиями на клеточных поверхностях.

Хемотаксис

Хемотаксисом называют движение клеток в направлении градиента концентрации какого-либо химического фактора, содержащегося в растворе (Harris, 1954; Armstrong, 1985). Клетки будут воспринимать химический сигнал и перемещаться в направлении повышающейся концентрации до тех пор, пока не достигнут источника секреции этого вещества. Однако легко составить представление о хемотаксисе и трудно подтвердить его существование. Во-первых, скопление клеток в данном месте может объясняться тем, что они просто попадают в «ловушку». Во-вторых, не исключено, что растворимый фактор только стимулирует подвижность клеток, а при наличии лишь одного пути миграции их перемещение будет имитировать хемотаксис (Zigmond, 1978;

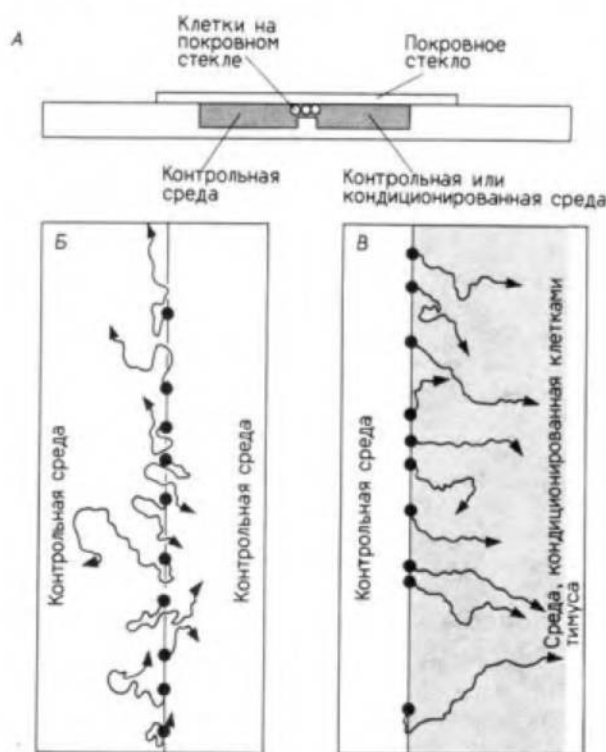


Рис. 15.5. Хемотаксис предшественников лимфоцитов к растворимому веществу, выделенному из тимуса. Клетки помещали в центр покровного стекла, прикрывающего две камеры, заполненные культуральной средой (А). Среда могла смешиваться под клетками, образуя градиент. Перемещение клеток регистрировалось с помощью видеокамеры. В. Траектории движения клеток в случае, когда обе камеры были заполнены одной и той же контрольной средой. В. Траектории движения клеток, когда в одной из камер содержалась контрольная (некондиционированная) среда, а в другой — кондиционированная, т.е. среда, в которой росли эпителиальные клетки тимуса. (По Champion et al., 1986.)

Trinkaus, 1985). Мы уже приводили два примера хемотаксиса, имеющего место в развитии. Спермии морского ежа перемещаются по градиенту низкомолекулярных веществ (таким, например, как резакт), выделяемых студенистой оболочкой яйца, а секретируемые опухолью факторы, вызывающие ангиогенез, обуславливают миграцию эндотелиальных клеток капилляров к опухоли.

Можно ли процессы морфогенеза, протекающие в зародыше, объяснить хемотаксисом? По крайней мере в одном случае миграция клеток обусловлена специфическими хемотаксическими факторами. Это миграция предшественников лимфоцитов из костного мозга в эмбриональный тимус (где они становятся Т-клетками иммунной системы), обусловленная растворимыми факторами, которые секретируются клетками тимуса. Для подтверждения хемотаксиса (Champion et al., 1986) клетки костного мозга перепела помещали на границе между двумя камерами, составляющей в длину 1 мм (рис. 15.5, А). Если в обеих камерах среда была нормальной, то направленного движения не наблюдалось (рис. 15.5, Б). Но если одна из камер содержала среду, в которой культивировались эпителиальные клетки эмбрионального тимуса, то происходила специфическая миграция клеток костного мозга в эту камеру (рис. 15.5, В). Веществом, обуславливающим хемотаксис, оказалось низкомолекулярное соединение (от 1000 до 4000 дальтон), стабильное при 95 °С и разрушающееся под действием протеаз. Это вещество не исследовали *in vivo*, но можно полагать, что миграция лимфоидных предшественников в развивающийся тимус направляется небольшим пептидом, который секретируют эпителиальные клетки эмбрионального тимуса.

Гаптотаксис

Градиенты возникают не только в растворе. Молекулы, обуславливающие адгезию, также могут образовывать градиенты во внеклеточном матриксе. Любая клетка, постоянно образующая и разрушающая адгезионные контакты с такими молекулами, будет перемещаться из области их низкой концентрации к месту высокой концентрации. Это явление называют **гаптотаксисом** (Carter, 1967; Curtis, 1969). Экспериментально было показано (Harris, 1973), что клетки в культуре способны мигрировать по градиенту концентрации вещества, добавленного в пластик культуральной чашки, но условия должны быть достаточно жесткими. Если субстрат окажется недостаточно липким, то клетки будут отклоняться от правильного пути, если же субстрат будет слишком липкий, то клетки к нему просто прилипнут.

Имеются данные (Poole, Steinberg, 1982), свидетельствующие о том, что миграция клеток протока

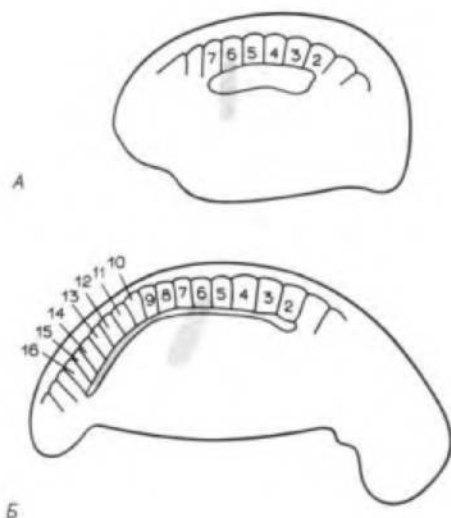


Рис. 15.6. Удлинение протока proneфроса путем клеточной миграции. На тело зародыша в месте новообразованного зачатка протока proneфроса нанесена метка витальным красителем. Спустя несколько часов меченая часть протока proneфроса переместилась в каудальную область зародыша, удалившись от первоначального источника. (По Poole, Steinberg, 1982b.)

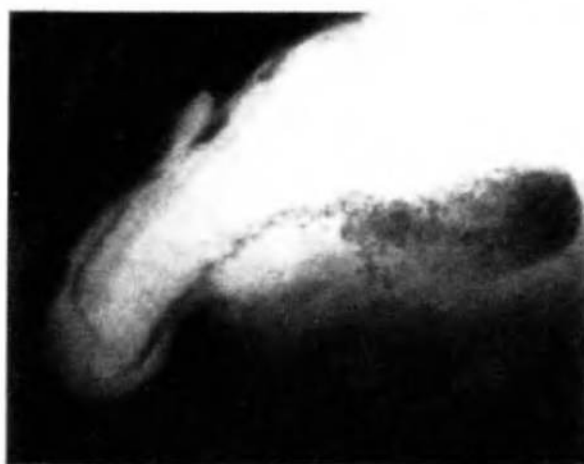
пронефроса у хвостатых амфибий регулируется гомеотаксисом. Зачаток протока proneфроса отделяется от дорсальной мезодермы в виде плотного тяжа клеток, простирающегося вдоль пяти-шести сомитов по вентролатеральной границе сегментирующейся мезодермы. Сначала эта группа клеток

выявляется в виде овальной массы вблизи головы зародыша, но по мере его развития этот зачаток распространяется вдоль вентролатеральной границы сомитов до тех пор, пока не достигнет клоаки (места выделения мочи). Рост протока осуществляется путем миграции исходной клеточной популяции. При этом клеточных делений не отмечено, индивидуальные клетки не удлиняются, а краситель, использованный для мечения клеток заднего конца зачатка proneфроса у раннего зародыша, обнаруживается вблизи клоаки на поздних стадиях (рис. 15.6). Таким образом, очевидно, что клетки зачатка proneфроса мигрируют по определенному пути из одного места на поверхности зародыша в другое.

Можно полагать, что фактор, определяющий эту миграцию, поляризован (т.е. локализован в виде градиента) на поверхности зародыша. Эту миграцию нельзя объяснить хемотаксисом, поскольку удаление области клоаки ее не прекращает, а пересадка клоаки в другие области зародыша не изменяет направление миграции зачатка proneфроса. Миграцию не определяет форма зародыша, не обуславливается она и электрическим градиентом (см. ниже). Если зачаток proneфроса одного зародыша пересадить другому, то проток донора всегда перемещается дорсально вдоль боковой мезодермы, чтобы соединиться с протоком хозяина, а затем мигрирует под сомитами каудально по направлению к клоаке (рис. 15.7). Трансплантированный проток никогда не смещается вентрально или к голове, какой бы ни была его ориентация при имплан-



А



Б

Рис. 15.7. Миграция клеток при удлинении протока proneфроса. А. Микрофотография, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа, на которой представлен трансплантированный зачаток протока proneфроса (внизу), распространяющийся по боковой мезодерме хозяина дорсокаудально, где он сольется с протоком хозяина. Б. Проток proneфроса аксолотля дикого типа трансплантирован хозяину-альбиносу, чтобы показать, что миграция происходит только в дорсальном (к сомитам) и каудальном (к клоаке) направлениях. (А – из Steinberg, Poole, 1982; Б – из Zackson, Steinberg, 1986; фотографии с любезного разрешения M. S. Steinberg, S. Zackson.)

тации (Zackson, Steinberg, 1987). Согласно полученным сравнительно недавно данным (Steinberg, 1987), у зародышей хвостатых амфибий на поверхности мезодермы существует градиент щелочной фосфатазы; этот градиент располагается в вентродорсальном и переднезаднем направлении. Устранение градиента ингибиторами щелочной фосфатазы останавливает миграцию протока пронефроса. Таким образом, вдоль клеточных поверхностей, по-видимому, существуют градиенты молекул, ориентирующие клетки при их миграции в зародыше.

Гальванотаксис

Возможен еще один источник полярных градиентов в зародыше – заряженные ионы. Разница потенциалов между клетками и их окружением может играть ключевую роль в развитии (как и в процессе оплодотворения). Существует ли разница потенциалов между отдельными частями зародыша и насколько важна такая разница для морфогенеза?

В 1920 г. в лаборатории Гаррисона были получены данные, свидетельствующие о том, что растущие нервные волокна располагаются вдоль электрических силовых линий (Ingvar, 1920). Однако спустя 14 лет аналогичные эксперименты в той же лаборатории дали иные результаты (Weiss, 1934), в связи с чем представление о влиянии электрических токов на морфогенез (**гальванотаксис**) потеряло свою популярность. Положение изменилось, когда Яффе и Нуччителли (Jaffe, 1981; Nuccitelli, 1984) сконструировали зонд, способный выявлять исключительно малые электрические токи в живом организме. Этих слабых электрических полей ($10\text{--}100\text{ мВ}\cdot\text{мм}^{-1}$) оказалось достаточно для изменения направления роста нервов или для его ускорения в направлении отрицательного полюса (рис. 15.8) (Hinkle et al., 1981; Jaffe, Roo, 1979). Подобный катодный эффект можно наблюдать при электрических градиентах около $7\text{ мВ}\cdot\text{мм}^{-1}$. По-видимому, электрический ток обуславливает приток Ca^{2+} в особую зону конуса роста, вызывая сборку цитоскелета и движение в определенном направлении (Cooper, Schliwa, 1985). Фибробласты куриного зародыша также мигрируют к отрицательному полюсу при культивировании их в слабом поле постоянного тока (Nuccitelli, Erickson, 1983). Более сильные электрические токи зарегистрированы у раннего куриного зародыша (Jaffe, Stern, 1979), в регенерационной бластеме конечностей некоторых амфибий (Borgens, 1982) и в яичнике бабочки *Cecropia* (Woodruff, Telfer, 1974). В последнем случае электрический ток, вероятно, играет важную роль в избирательном транспорте (наподобие электрофореза) материала из фолликулярных клеток в ооцит (гл. 21). Однако роль таких токов в направленной миграции аксонов и в по-

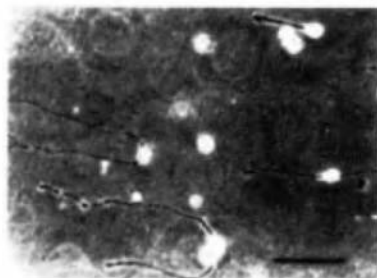


Рис. 15.8. Гальванотаксис в культуре. Нейроны *Xenopus* простирают свои аксоны параллельно градиенту напряжения 170 мВ/мм . Знаками плюс и минус обозначены соответственно анод и катод. (Из Hinkle et al., 1981; фотография с любезного разрешения K. R. Robinson.)

ведении клеток в организме все еще остается неясной.

Контактное ориентирование

До сих пор мы ограничивались обсуждением влияния химических или ионных факторов на направленную миграцию клеток. Однако не исключено, что важную роль в этом процессе играют также и физические факторы. На клетку влияют физические свойства субстрата, по которому она перемещается; эти особенности заставляют ее выбирать преимущественное направление своего перемещения путем **контактного ориентирования** (contact guidance). Если физические преграды оставляют открытым только один канал, то подвижным клеткам не остается иного пути миграции, кроме этого канала.

В 1934 г. в опытах Вейса (Weiss, 1934) было показано, что растущие нервные волокна следуют по контурам стресса сгустка плазмы, не выходя из неглубоких желобков. Более того, изменяя линии стресса, можно было заставить нервные волокна идти параллельно друг другу (рис. 15.9). Вейс (Weiss, 1955) отметил, что если форма субстрата изменена линиями натяжения, идущими в определенном направлении, то созданные таким образом каналы будут ориентировать клеточную миграцию. В то время, однако, не был понятен источник таких натяжений. Только в 1980 г. Гаррис показал, что фибробласты могут кардинально изменять субстрат, на котором их культивируют. При культивировании на пленке из силиконовой резины или на коллагене они деформируют субстрат, образуя под собой такие же волокна стресса, как и те, что наблюдал Вейс (рис. 15.10). Таким образом, скопление фибробластов может изменить форму субстрата. Если на такой субстрат беспорядочно поместить мышечные клетки, то они организуются в оформленные функциональные единицы (Stopak, Harris, 1982). Полагают, что контактное ориенти-

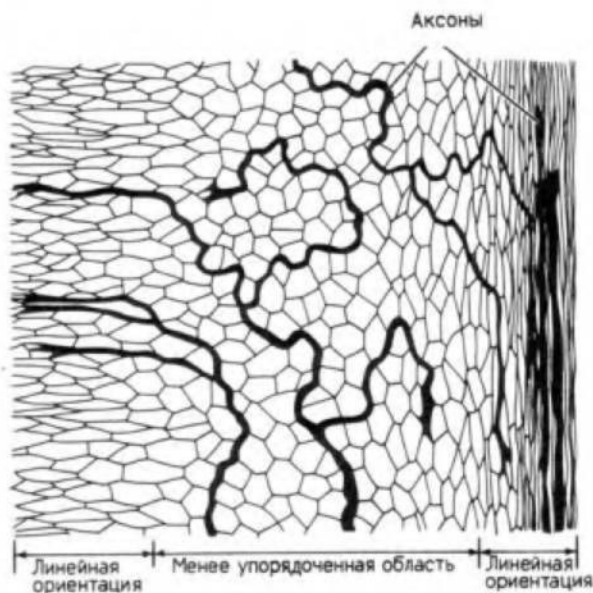


Рис. 15.9. Контактное ориентирование аксонов волокнами стресса сгустка плазмы. В том случае, когда субстрат представлен неупорядоченной сетью волокон, расположение аксонов случайно, и они часто ветвятся. Однако в местах, где волокна матрикса параллельны друг другу, аксоны также вынуждены располагаться параллельно друг другу. (По Weiss, 1955.)

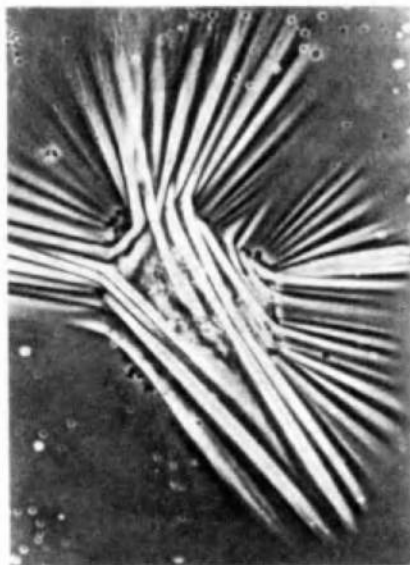


Рис. 15.10. Волокна стресса, образуемые одиночным фибробластом куриного зародыша. Фибробласт движется по слою силиконовой резины. Ширина клетки составляет примерно 80 мкм. (Из Harris, 1984; фотография с любезного разрешения А. К. Harris.)

рование вызывает миграцию мезенхимных клеток в плавнике рыбы. Содержащие коллаген фибриллы в основании развивающегося грудного плавника у зародышей костистых рыб образуют субстрат, обеспечивающий преимущественное направление движения мезенхимных клеток из туловища в область плавника (Wood, Thorogood, 1987).

Контактное ингибирование движения

Рассмотренные выше механизмы миграции клеток на относительно дальние расстояния следует дополнить локальными явлениями, которые также вносят определенный вклад в направленную миграцию. Клетки движутся посредством вытягивания тонкого отростка — **ламеллоподии**. Когда ламеллоподия одной мигрирующей клетки контактирует с поверхностью другой клетки, наблюдается паралич этой ламеллоподии и ее исчезновение. Такое явление называется **контактным ингибированием движения** (рис. 15.11). В данном случае новая ламеллоподия образуется где-либо в другом месте клетки, уводя ее от соседней (Abercrombie, Ambrose, 1958). В итоге происходит миграция подвижных клеток от центральной массы. (Это явление прежде всего характерно для мезенхимных клеток и не свойственно клеткам, объединенным в эпителиальный слой, если только не обнажена свободная граница эпителия.)

Контактное ингибирование может служить стимулом для миграции клеток нервного гребня (Rosario et al., 1983); процесс этот имеет место и при заживлении ран. Если удалить эпидермальные клетки с хвостов головастика *Xenopus*, то подстилающие базальные клетки по краям раны в течение 5–10 секунд формируют ламеллоподии. С помощью этих ламеллоподий клетки перемещаются по базальной мембране, покрывая площадь раны. Прикасаясь друг к другу, противолежащие ламеллоподии слегка пересекаются, слипаются и перестают двигаться (Radice, 1980).

Термодинамическая модель клеточных взаимодействий

Приведенные выше модели объясняют ряд существенных черт морфогенеза, но они не позволяют объяснить явление рассортировки, обнаруженное Таунсом и Гольфрестером. В 1964 г. Малколм Стейнберг предложил модель, объясняющую направления клеточной рассортировки на основе принципов термодинамики. В опытах на клетках трипсинизированных эмбриональных тканей Стейнберг показал, что клетки определенных типов в комбинациях с одними клетками всегда мигрируют к центру, а с другими — к периферии. Более того, эти взаимо-

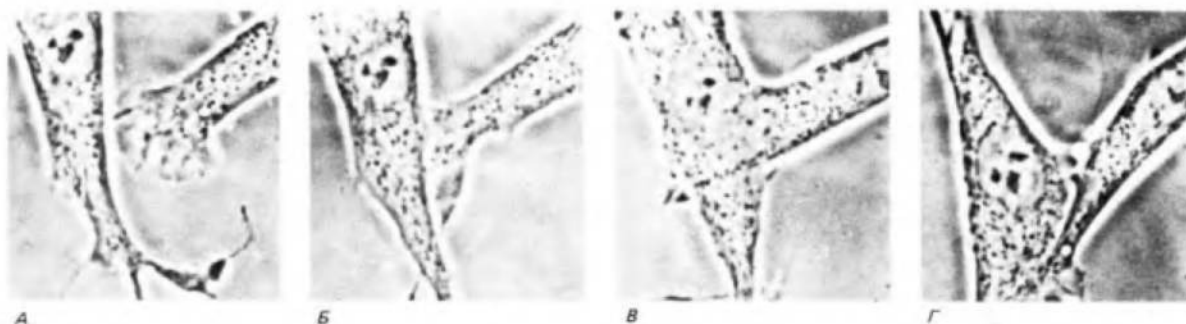


Рис. 15.11. Контактное ингибирование. Ламеллоподия одного фибробласта приближается (А) и контактирует (Б) с мембраной другого фибробласта. Во время этого контакта клетка с гофрированной мембраной проходит под другой клеткой (В) и затем от нее удаляется (Г). (Из Erickson, 1978; фотография с любезного разрешения С. А. Erickson.)

действия образуют коммутативную иерархию (Steinberg, 1970). Если положение одного клеточного типа А является внутренним по отношению к другому клеточному типу Б, а Б служит внутренним по отношению к третьему клеточному типу В, то А всегда будет внутренним по отношению к В (рис. 15.12). Это наблюдение привело Стейнберга к мысли о том, что смешанные клетки взаимодействуют таким образом, что формируется агрегат с наименьшей свободной энергией поверхности (рис. 15.13). Иными словами, в результате клеточной перестройки достигается наиболее стабильная в термодинамическом отношении организация. Если клеточные типы А и В обладают различной силой адгезии и если сила связей А–А больше А–В или В–В, то произойдет рассортировка, в результате которой клетки А займут центральное положение. Если же сила связей А–А меньше или равна силе связей А–В, то клетки в агрегате останутся беспорядочно перемешанными. И наконец, если сила сцепления А–А намного больше силы сцепления А–В, другими словами, если адгезия между клетками А и В практически отсутствует, то клетки А и В сформируют раздельные агрегаты.

Все, что необходимо для рассортировки клеток, — это разная сила их адгезии. В простейшем случае на поверхности всех клеток может быть один и тот же сорт «клея». Количество этого продукта клеточной поверхности или клеточная архитектура, обуславливающая различную концентрацию этого вещества, может стать достаточным условием для установления разного количества устойчивых контактов между клетками разных типов. Вместе с тем причиной термодинамических различий могут быть разные типы адгезионных молекул. Эта термодинамическая модель названа **гипотезой дифференциальной адгезии**. В соответствии с этой гипотезой считается, что ранний зародыш находится в состоянии равновесия, пока какое-либо изменение активности генов не приведет к изменению поверхностных молекул. Тогда происходят перемещения клеток с целью поиска и установления новой равновесной конфигурации.

Данные в пользу термодинамической модели, полученные *in vivo*

До недавнего времени не удавалось поставить эксперимент по проверке термодинамической моде-

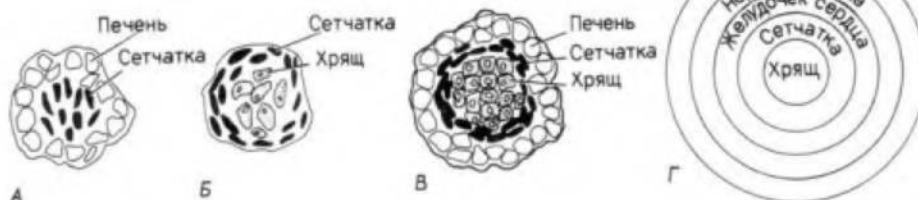


Рис. 15.12. Коммутационная иерархия рассортировки у ранних куриных зародышей. Клетки, обладающие способностью к слипанию в наибольшей степени, занимают в смешанном агрегате центральное положение А. Пигментированные клетки сетчатки отсортировываются от клеток печени к центру, но в случае смешивания с клетками хряща занимают периферическое положение (Б). В. Если смешаны клетки всех трех типов, то клетки сетчатки образуют слой между центрально расположенными хрящевыми клетками и периферическими клетками печени. Г. Относительное положение, занимаемое в агрегатах клетками пяти различных типов. (Из Steinberg, 1964.)

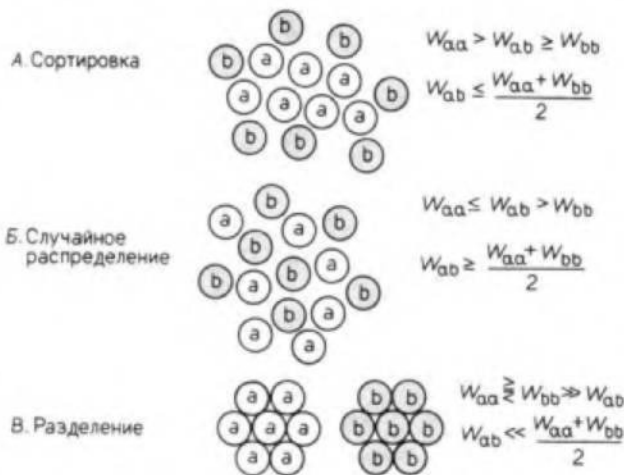


Рис. 15.13. Рассортировка – процесс, стремящийся к максимальной термодинамической устойчивости. *А.* Рассортировка происходит в том случае, когда средняя сила адгезии между клетками разных типов (W_{ab}) меньше среднего значения гомотипических ($a-a$ или $b-b$) адгезивных сил (W_{aa} , W_{bb}). Клетки, обладающие большей адгезивной способностью, занимают центральное положение. *Б.* Если сила адгезии $a-b$ больше или равна среднему гомотипическим адгезиям, то рассортировки не будет, так как система уже достигла термодинамического равновесия, и смесь клеток будет носить случайный характер. *В.* Если связи $a-b$ намного слабее, чем среднее гомотипических адгезий, то произойдет полное разделение клеток разных типов. (Это наблюдается, например, в случае смешивания масла и воды.) (По Steinberg, 1982.)

ли клеточной миграции *in vivo*, однако теперь данные в поддержку этой гипотезы удалось получить в опытах по изучению регенерации конечностей у бесхвостых амфибий. Регенерация конечностей этих животных (подробно этот процесс будет описан в гл. 17) характеризуется рядом примечательных особенностей. Если переднюю конечность ампутировать на уровне *плеча*, то на кончике оставшейся культи формируется масса дедифференцированных клеток (регенерационная бластема), которые делятся, дифференцируются и формируют новую конечность. Дифференцировка новых тканей начинается в месте ампутации, образуя в этом случае недостающую часть от уровня плеча в дистальном направлении. Если передняя конечность удалена на уровне *запястья*, то формируется аналогичная регенерационная бластема. Однако она не образует тканей плеча и предплечья – скорее, она «знает» свое место и регенерирует только запястье и пальцы.

Каким образом хранится эта «позиционная память»? Нарди и Стокум (Nardi, Stocum, 1983) показали, что если совместить две бластемы конечностей хвостатой амфибии с одного уровня ампутации, то они сольются, но ни одна из тканей не будет окружать другую (рис. 15.14). Однако если бластемы взяты с разных уровней, то более проксимальная (та, что ближе к телу) бластема окружит более дистальную. Эти факты свидетельствуют о том, что адгезивные свойства клеток образуют градиент вдоль проксимодистальной оси, будучи в большей степени представлены в запястье и в меньшей – в области плеча.

Исследователям (Crowford, Stocum, 1988) удалось связать эти процессы рассортировки клеток, наблюдаемые вне организма, с процессами в живой регенерирующей конечности. Бластемы из области запястья, предплечья или плеча пересекались на границу бластема – культи задней конечности, ампутиро-

ванной на уровне середины бедра. Бластемы передней конечности мигрировали дистально на соответствующий уровень задней конечности хозяина и затем регенерировали новые структуры (рис. 15.15). Бластема *плеча* регенерировала полную переднюю конечность непосредственно от уровня середины бедра. Бластема *предплечья* перемещалась на уровень голени и здесь образовывала недостающую часть передней конечности в дистальном направлении; бластема *запястья* смещалась к концу регенерирующей задней конечности, где рядом с предплечной формировала запястье. Эти данные позволяют считать, что иерархия клеточной рассортировки, наблюдаемая вне организма, отражает существующие в организме различия, которые позволяют ему создавать новые органы.

Изменения в строении клеточной поверхности

Строение клеточной мембраны

Формирование тканей и органов обусловлено событиями, происходящими на клеточной поверхности соседних клеток. Клеточная поверхность включает: плазматическую мембрану клетки, молекулы, расположенные непосредственно под ней и с ней связанные, и молекулы, находящиеся во внеклеточном пространстве. Эукариотические клетки окружены сложным молекулярным пограничным слоем, называемым плазматической (или клеточной) мембраной. Современные представления о строении этой мембраны укладываются в **жидкостно-мозаичную модель**, изображенную на рис. 15.16 (Singer, Nicolson, 1972). Основу мембраны составляют два слоя фосфолипидов, полярные концы которых ориентированы в сторону водных растворов с каждой стороны фосфолипидной среды. Некоторые белки про-

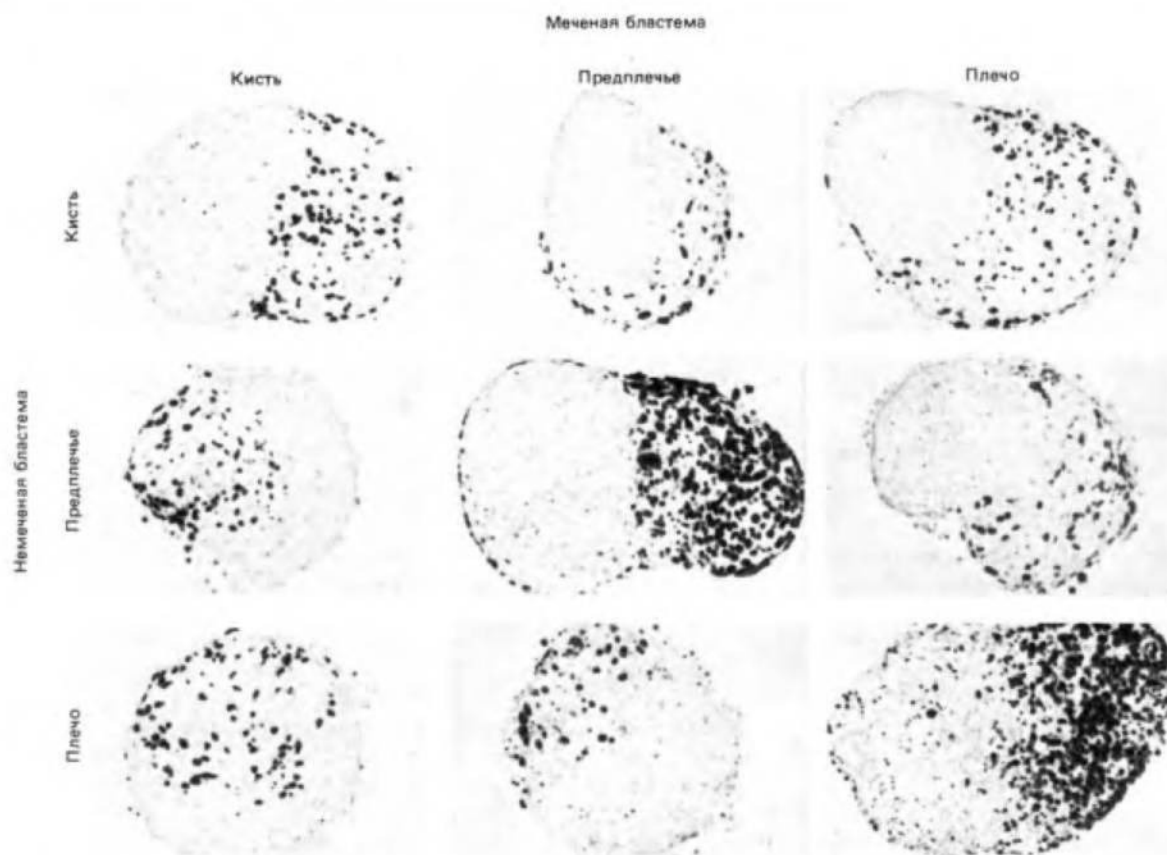


Рис. 15.14. Рассортировка бластем передних конечностей с одного и того же и с разных уровней ампутации, совмещенных в условиях культуры. Наиболее дистальной из анализируемых структур служит запястье, наиболее проксимальной – плечо. В каждой комбинации один из членов мечен тритием. Через 3 сут культивирования агрегаты были зафиксированы, и из них приготовлены срезы. Результаты изучения гистологических препаратов показали, что граница слияния бластем, полученных на одном и том же уровне ампутации, имеет вид прямой линии, тогда как при слиянии бластем с разных уровней проксимальная бластема имеет тенденцию окружать более дистальные клетки. (Из Nardi, Stocum, 1983; фотографии с любезного разрешения D. Stocum.)

низируют мембрану насквозь, тогда как другие лишь частично погружены в фосфолипидный бислой. Распределение белков обуславливает «мозаичность» мембраны. Способность белков перемещаться в плоскости фосфолипидного матрикса служит свидетельством ее «жидкостной» природы. Многие мембраны содержат также достаточно большие количества углеводов. Эти сложные сахара присоединены к липидам и белкам на наружной поверхности мембраны.

Данные о мозаичном распределении белков в фосфолипидном матриксе были получены с помощью разных методик, но главная из них – методика **замораживания–скалывания** (рис. 15.17, А). Суть ее заключается в том, что замороженная мембрана расщепляется таким образом, что ее липидные слои отделяются друг от друга. Поверхность скола (рис. 15.17, Б) дает возможность судить

о мозаичной природе распределения белков. Жидкостная природа мембраны была убедительно продемонстрирована в опытах по слиянию соматических клеток с использованием клеток мыши и человека (Frye, Edidin, 1970). С этой целью клетки человека инъецировали кролику, получая таким образом антитела к их белкам; аналогичным способом были получены специфические антитела к белкам мышечных клеток. Затем, применяя флуоресцентный краситель, получали флуоресцирующие антитела против белков мыши, дающие зеленое свечение в ультрафиолетовом свете; антитела против человеческих белков окрашивали роданином, дающим красное свечение. Таким образом, белки клеток обоих типов оказались мечеными – человеческие стали красными, а мышечные – зелеными. После слияния клеток и маркирования их мечеными антителами мышечные и человеческие белки сначала

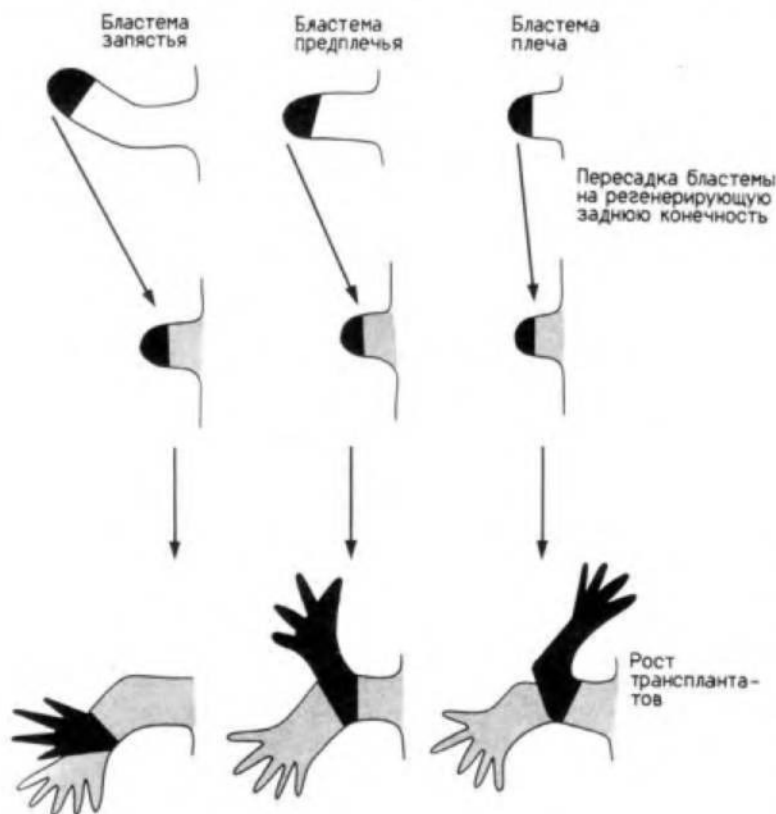


Рис. 15.15. Рассортировка *in vivo* («аффинорефлекс») демонстрируется экспериментом, в котором регенерационная бластема передней конечности (черная), пересаженная на бластему середины бедра (серая), смещается в соответствующую область регенерирующей задней конечности (т. е. плечо к середине бедра, предплечье — к голени, запястье — к лапке) и здесь инициирует регенерацию передней конечности в дистальном направлении. (По Stocum, 1986.)

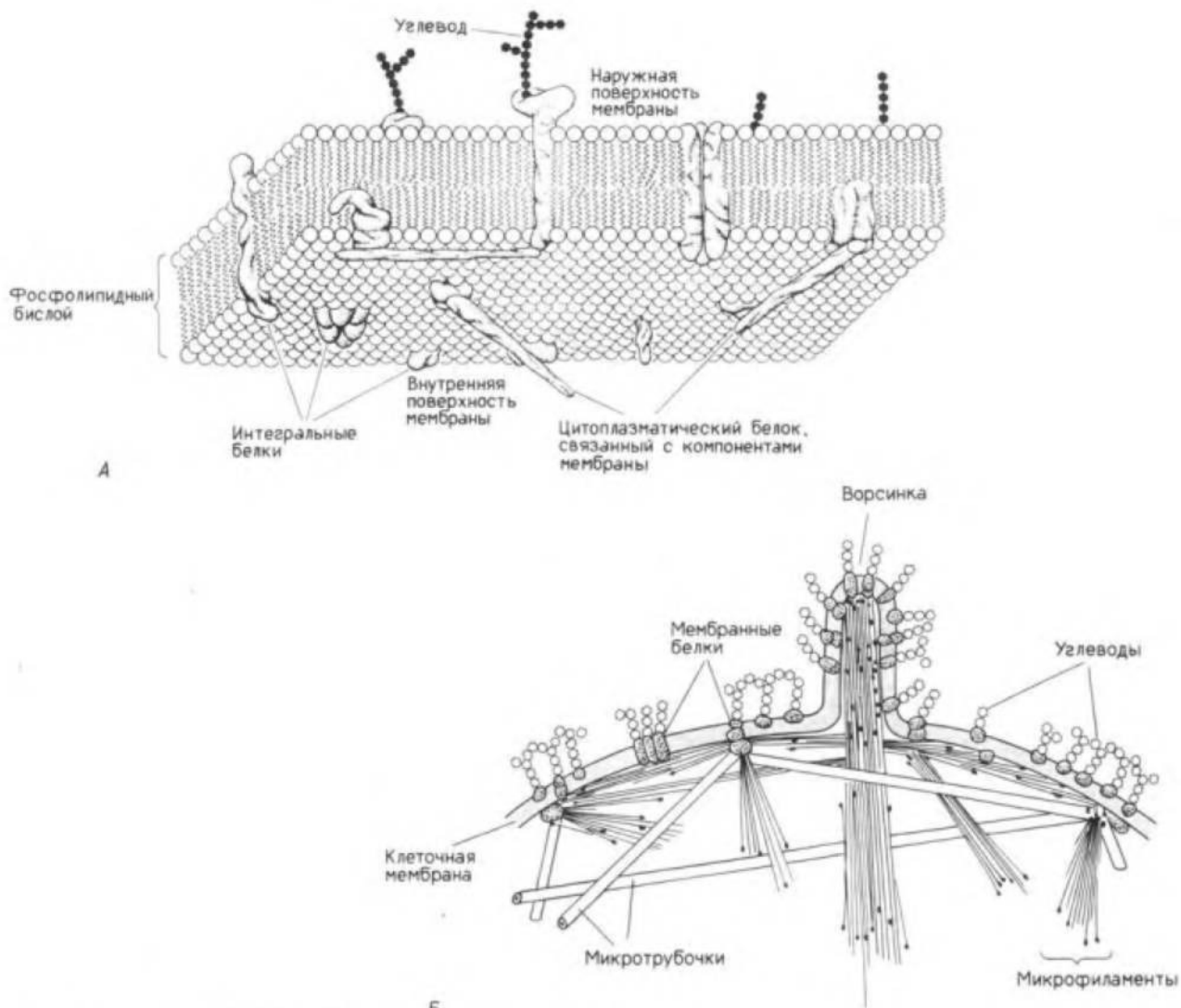
можно было обнаружить в разных половинах гибридной клетки (рис. 15.18). Когда, однако, обрабатывали такие клетки мечеными антителами, через час после слияния белки оказались полностью перемешанными. Поскольку ингибиторы синтеза белков не блокируют этого смешивания, синтез новых белков можно исключить. Следовательно, белки могут перемещаться по жидкому матриксу. Текучесть липидного бислоя дает также возможность новым липидным и белковым компонентам внедряться в уже существующую мембрану.

Диффузия белков в мембране служит примером пассивной диффузии и не требует затраты энергии клеткой. Специфические белки, однако, могут быть вынуждены перемещаться определенным образом. Если антитела, полученные к специфическим мембранным белкам, добавить к содержащим эти белки клеткам в избытке, то белки перераспределяются, образуя сначала пятна, а затем «колпачки» («caps») на одном из концов клетки (рис. 15.19). Этот процесс, называемый кэппингом, зависит от энергии и от системы микротрубочек и микрофиламентов клетки (Edelman, 1976; Nicolson, 1976). Он наблюдается в нормальных клетках при перемещении специфических молекул в определенную область мембраны. Его можно наблюдать также при поля-

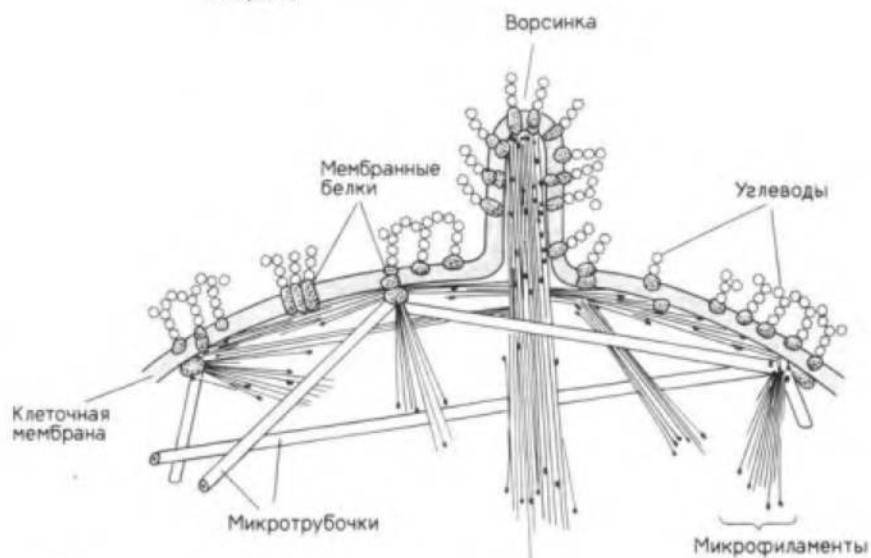
ризации бластомеров млекопитающих перед компактизацией (гл. 3).

Мы располагаем данными о том, что микрофиламенты и микротрубочки находятся в контакте с плазматической мембраной и контролируют движение мембранных белков. Например, в процессе фагоцитоза количество клеточных мембранных ферментов не уменьшается: несмотря на включение мембраны в клетку (интернализацию), ферменты остаются снаружи. Следовательно, клетка каким-то образом запрещает белкам помещаться в том участке мембраны, который подлежит интернализации. Если же фагоцитоз частиц происходит в присутствии ингибитора образования микротрубочек колхицина, то количество ферментов на поверхности клеток уменьшается (Ukena, Berlin, 1972). Эти данные свидетельствуют о том, что взаимодействия цитоскелета и мембраны контролируют положение некоторых мембранных белков.

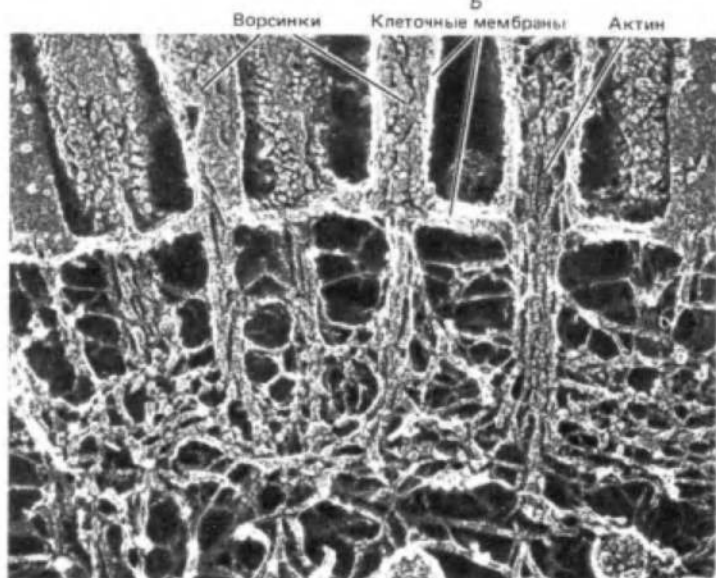
Актиновые микрофиламенты также, по-видимому, связаны с белками плазматической мембраны (рис. 15.16, В). При обработке клеток цитохалазином В, разрушающим микрофиламенты, кэппинг подавляется (DePetris, 1974). Наличие микрофиламентов — это типичный признак цитоплазмы на границе с клеточной мембраной; иногда микрофила-



А

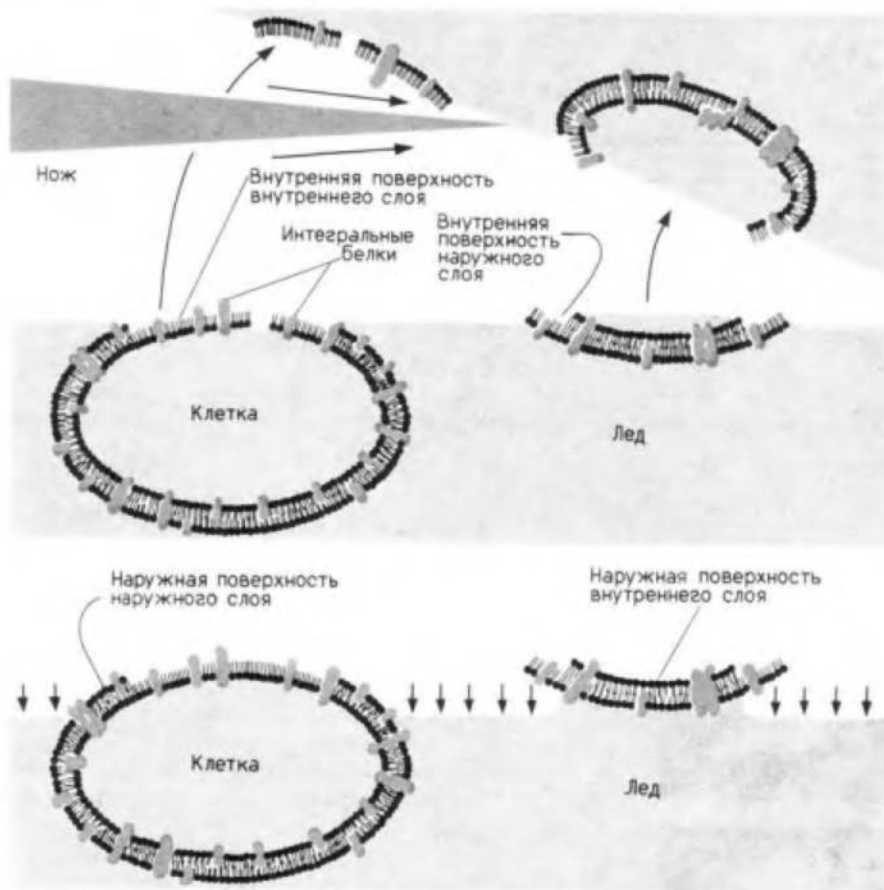


Б

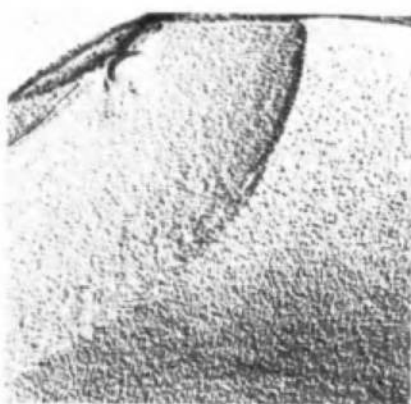


В

Рис. 15.16. Строение клеточной поверхности. А. Жидкостно-мозаичная модель строения клеточной мембраны. Б. Подлежащий цитоскелет. Сократительные волокна, представленные актиновыми микрофиламентами и тубулиновыми микротрубочками, связаны друг с другом и с клеточной мембраной. Интегральные гликопротеины мембраны могут быть связаны и с внеклеточными белками, и с внутренними волокнами. В. На фотографии, полученной с помощью сканирующего электронного микроскопа (использован метод замораживания-скалывания) выявляются детали строения поверхности клетки тонкой кишки. Актин, входящий в микроворсинки, сразу под клеточной мембраной соединяется толстыми и тонкими филаментами. (В – из Hirokawa et al., 1983; с любезного разрешения N. Hirokawa.)



А



Б

Рис. 15.17. Метод замораживания-скалывания. А. Схематически представлена плоскость скала, расщепляющего мембрану на два слоя. Б. Электронная микрофотография внутренней поверхности мембраны эритроцита после замораживания-скалывания, позволяющая видеть множество связанных с мембраной частиц. (Фотография с любезного разрешения D. Branton.)

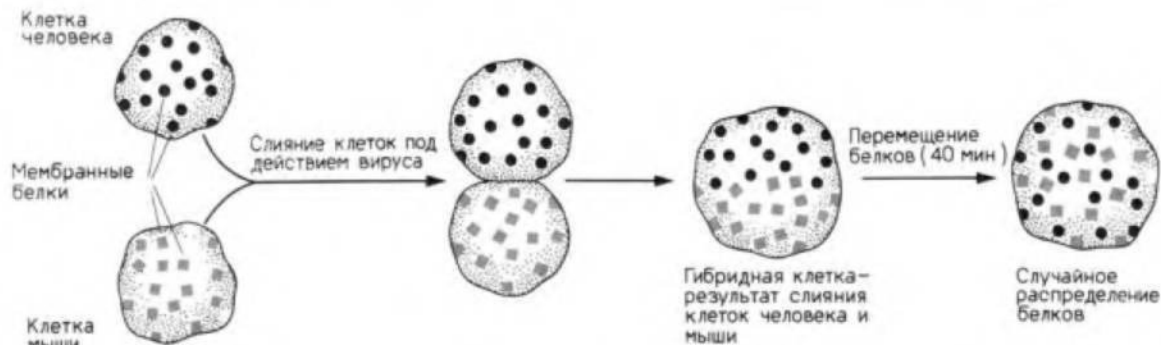


Рис. 15.18. Латеральная подвижность мембранных белков, демонстрируемая в эксперименте по слиянию клеток.

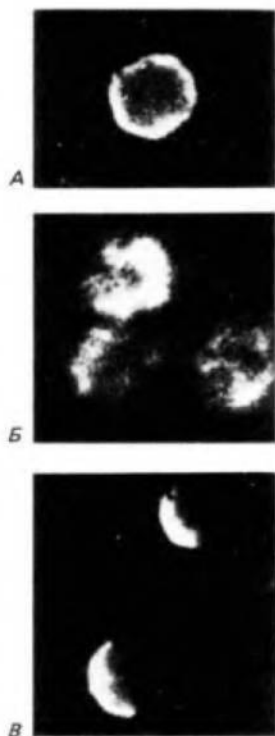


Рис. 15.19. Специфическое перемещение белков клеточной мембраны. Связывание антител со специфическими молекулами клеточной поверхности, равномерно распределенными в клеточной мембране (А), вызывает объединение последних в кластеры, образующие дискретные пятна (Б), перемещающиеся к одному полюсу (В). На этих фотографиях молекулы клеточной поверхности выявляются благодаря тому, что связавшиеся с ними антитела окрашены флуоресцентным красителем. (Фотография с любезного разрешения G. M. Edelman.)

менты непосредственно связаны с самой мембраной (рис. 15.20). Микрофиламенты играют важную роль и в движении клеток. В этом случае активные микрофиламенты связываются с миозином, α -актином и тропомиозином, образуя сократимую сеть, сходную с аналогичной структурой в мышцах. Предполагается, что эта сократимая сеть закреплена в мембране при помощи белка **талиина**, соединяющего микрофиламенты с белком клеточной мембраны. У большинства клеток позвоночных эта сеть обеспечивает механизм удлинения и миграции клетки.

Клеточная мембрана содержит также белки, способные взаимодействовать с внешней средой. Некоторые белки имеют активные участки, направленные наружу, к другим клеткам. Наиболее известные белки этого типа — **транспортные белки**, облегчающие движение ионов и питательных веществ в клетку, и **рецепторные белки**, связывающие гормоны и лекарственные препараты. Кроме того, есть еще три класса молекул клеточной мембраны (обычно это белки), специально участвующие в обеспечении специфических взаимодействий с другими клетками (Edelman, Thiery, 1985).

1. **Молекулы клеточной адгезии.** Эти белки участвуют в адгезии клетка-клетка. Они могут объединять клетки в эпителиальные слои и конденсировать мезенхимные клетки.
2. **Молекулы адгезии клеток к субстрату.** Эти молекулы участвуют в связывании клеток с их внеклеточными субстратами. К их числу относятся компоненты внеклеточного матрикса и рецепторы для этих молекул на поверхности клеток. Молекулы адгезии к субстрату обуславливают движение мезенхимных клеток и пространственное разделение эпителиальных слоев.
3. **Молекулы клеточных контактов.** Эти молекулы обеспечивают пути, посредством которых



Рис. 15.20. Присоединение внутренних микрофиламентов к клеточной мембране. Электронная микрофотография сагиттального (А) и поперечного (Б) срезов кишечных ворсинок позволяет видеть прикрепление микрофиламентов к апикальной и боковым поверхностям клеточной мембраны (указано стрелками). Это прикрепление опосредовано вспомогательными белками, такими, как α -актинин. (Из Mooseker, Tilney, 1975; фотографии с любезного разрешения М. Mooseker.)

цитоплазма соседних клеток может сообщаться (т. е. их коммуникация), а также обеспечивают непроницаемость и сообщают механическую прочность эпителиальным слоям.

Предполагается, что экспрессия этих молекул клеточной поверхности опосредует связь между одномерным генетическим кодом и трехмерным организмом. Модулируя появление этих молекул, геном таким образом детерминирует процесс морфогенеза.

Изменения клеточной мембраны в процессе развития

Экспрессия различных компонентов мембраны изменяется во времени и пространстве. Клетки разных типов характеризуются различными компонентами клеточной поверхности, к тому же последние изменяются по мере развития клеток. Эти тканеспецифические мембранные компоненты часто выявляются с помощью антисывороток, поэтому их называют **антигенами дифференцировки** (Boyse, Old, 1969).

Специфические антигены дифференцировки мож-

но идентифицировать в настоящее время с помощью **моноклональных антител** (рис. 15.21). Эти антитела получают путем инъекции чужеродных клеток мышам (или клеток мышцы одной линии мышам другой линии). Мышиные В-лимфоциты будут продуцировать антитела против любого чужеродного компонента этих клеток, причем каждый В-лимфоцит синтезирует антитела только одного типа. Эти лимфоциты были сделаны «бессмертными» путем слияния их со злокачественными В-лимфоцитами (клетками миеломы), которые мутировали таким образом, что 1) перестали синтезировать собственные антитела и 2) утратили фермент гипоксантин-фосфорибозилтрансферазу (ГФРТ), участвующий в обмене пуринов. Последнее изменение означает, что клетки миеломы способны лишь синтезировать пуриновые нуклеотиды *de novo* и не способны использовать пурины, содержащиеся в культуральной среде. После слияния клетки выращивают в среде с добавлением аминоптерина — вещества, ингибирующего синтез пуринов *de novo*. В результате неслившиеся клетки миеломы гибнут из-за пуринового голодания: они не могут получать пуриновые нуклеотиды с помощью синтеза, опосре-

дованного ГФРТ, а их синтез ингибирован аминоптеринном. Нормальные В-лимфоциты в культуре не делятся, поэтому они также погибают. Продукт слияния В-лимфоцита и миеломной клетки — **гибридома** — пролиферирует, получая ГФРТ от В-лимфоцита и способность к росту от злокачественной клетки. Кроме того, каждая из этих гибридом секретирует специфические антитела В-лимфоцита. Затем среду, в которой растут гибридомы, тестируют на

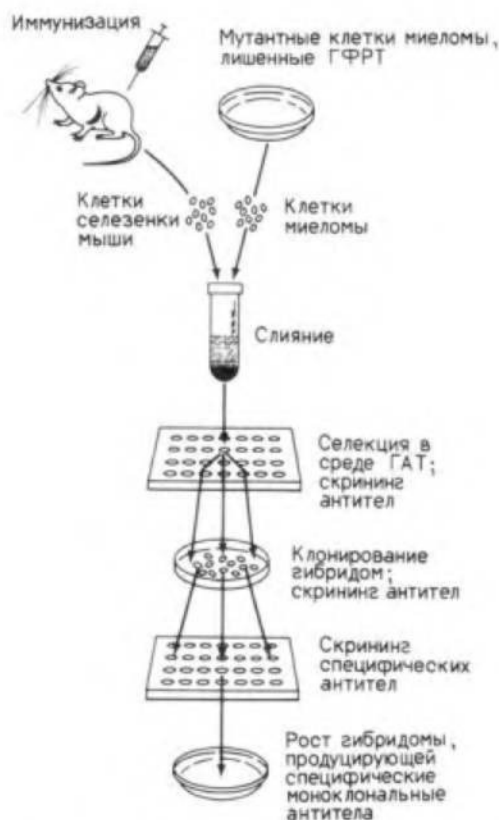


Рис. 15.21. Протокол получения моноклональных антител. Клетки селезенки иммунизированной мыши сливаются с мутантными клетками миеломы, лишенными фермента ГФРТ. Клетки выращиваются в среде, содержащей гипоксантин, аминоптерин, тимидин (ГАТ). Неслившиеся клетки миеломы в этой среде расти не могут, так как аминоптерин блокирует единственный путь, посредством которого они могут синтезировать пуриновые нуклеотиды. В-клетки при культивировании погибают, несмотря на то что содержат фермент (ГФРТ), позволяющий им использовать гипоксантин, содержащийся в среде. Растут и делятся только слившиеся клетки (гибридомы). Лунки, в которых растут гибридомы, проверяются на наличие эффективных антител; из «положительных» лунок клетки высевают при плотности, достаточно низкой для того, чтобы индивидуальные клетки могли дать отдельные клоны. Полученные клоны выделяют и снова производят скрининг на эффективные антитела. Такие антитела будут моноклональными. Гибридому, продуцирующую эти антитела, можно вырастить и заморозить. (По Yelton, Scharff, 1980.)

антитела, способные связываться с исходной популяцией клеток. Такие антитела, первичным источником которых является единственный В-лимфоцит, называются моноклональными антителами. Моноклональные антитела можно получать в неограниченных количествах и с их помощью узнавать антигены (белки, липиды или углеводы), экспрессированные в малых дозах (Köhler, Milstein, 1975).

Моноклональные антитела против специфических клеточных типов позволили обнаружить многочисленные антигены дифференцировки, появляющиеся в процессе развития в разных местах и в разное время. На рис. 15.22 представлены различные молекулы клеточной поверхности в пространственно разграниченных слоях нейральной сетчатки только что вылупившегося цыпленка. Каждое из моноклональных антител узнает разные молекулы клеточной мембраны. Как видно из этой скомпонованной фотографии, мембраны всех клеток нейральной сетчатки не одинаковы. Фактически различаться могут даже разные участки мембраны одной и той же клетки: так, мембрана аксона и мембрана тела нейрона содержат разные молекулы. На рис. 15.23 показаны временные изменения клеточной мембраны одной эпителиальной клетки дрозофилы по мере того, как эта клетка превращается в фоторецептор сетчатки. Моноклональные антитела были получены после инъекции мыши гомогената тканей головы дрозофилы, а затем набор антител был тестирован на клетках имагинального диска глаза личинки третьего возраста; этот диск дифференцируется в структуры глаза. Как только недифференцированные эпителиальные клетки диска приобретали свойства нейрона, они экспрессировали антиген 22C10. Этот антиген был обнаружен и на других типах нервных клеток. Однако вскоре клетка начинала экспрессировать другую молекулу клеточной мембраны — антиген 24B10. Эта молекула появлялась только у тех нейронов, которые давали начало фоторецепторам. На более поздних стадиях (спустя примерно 80 ч) на некоторых областях созревающих фоторецепторов появлялся антиген 21A6 и затем другой антиген, 28H9, характерный для окончательно дифференцированных фоторецепторов сетчатки (Zipursky et al., 1984).

Таким образом, поверхностные мембраны клеток различных типов содержат разные молекулы, и эти молекулы могут меняться по мере созревания данной клетки.

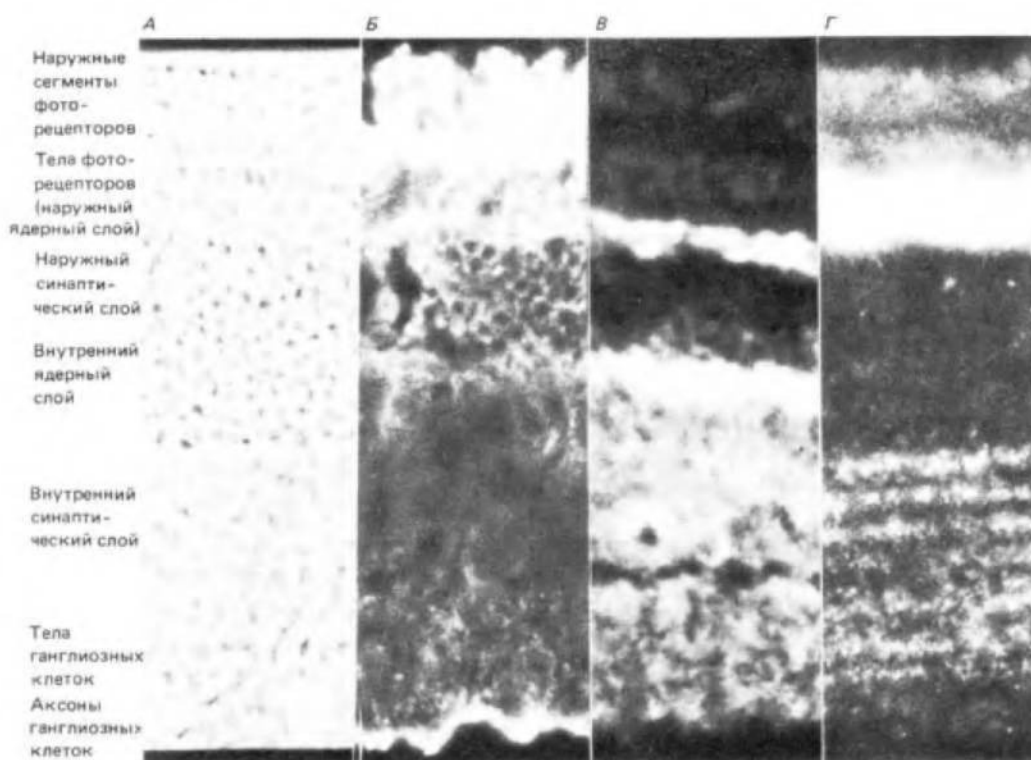


Рис. 15.22. Специфичность клеточной поверхности нейральной сетчатки цыпленка. *А.* Фазово-контрастная фотография среза нейральной сетчатки только что вылупившегося цыпленка. *Б.* Срез сетчатки, окрашенный флуоресцирующими моноклональными антителами, узнающими клетки сетчатки (но не другие нервные клетки). *В.* Срез сетчатки, окрашенный флуоресцирующими моноклональными антителами, узнающими нервные (но не глиальные) клетки сетчатки. *Г.* Срез сетчатки, окрашенный флуоресцирующими моноклональными антителами, узнающими антигены на фоторецепторах и телах ганглиозных клеток. (Фотографии с любезного разрешения G. Grunwald.)

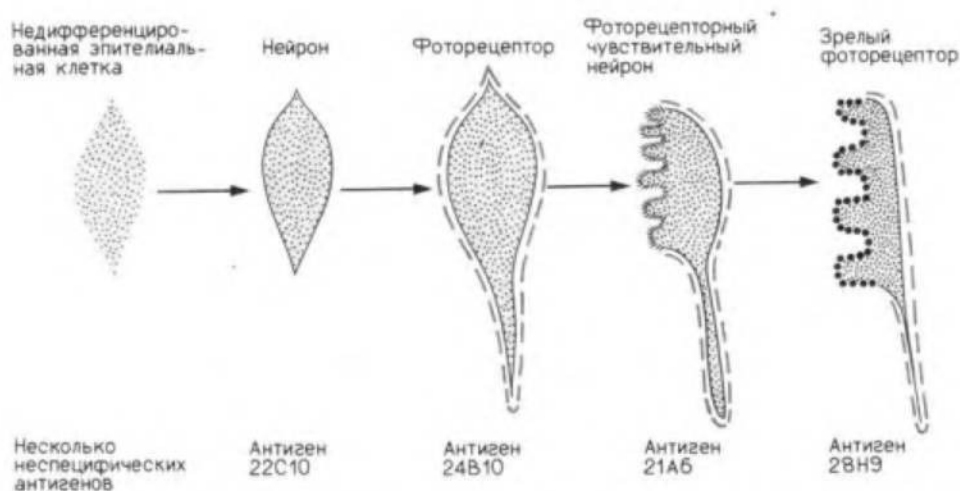


Рис. 15.23. Временные изменения клеточной мембраны, коррелированные с морфогенезом фоторецепторных клеток сетчатки. По мере дифференцировки фоторецепторов на их клеточной мембране экспрессируются различные антигены. (По Venkatesh et al., 1985.)

Дополнительные сведения и гипотезы

От белка к гену

Поскольку антигенами дифференцировки часто служат белки, экспрессия которых регулируется в пространстве и во времени, и поскольку эти изменения часто коррелируют со специфическими морфологическими переходами (что иллюстрирует рис. 15.23), было бы интересно знать, каким обра-

зом регулируется активность их генов. Например, если бы нам было известно, как экспрессируется белок 24B10, то это послужило бы ключом к разгадке генетического механизма дивергенции нейронов. Каким образом можно проследить эту «обратную генетику» — от белка к гену?

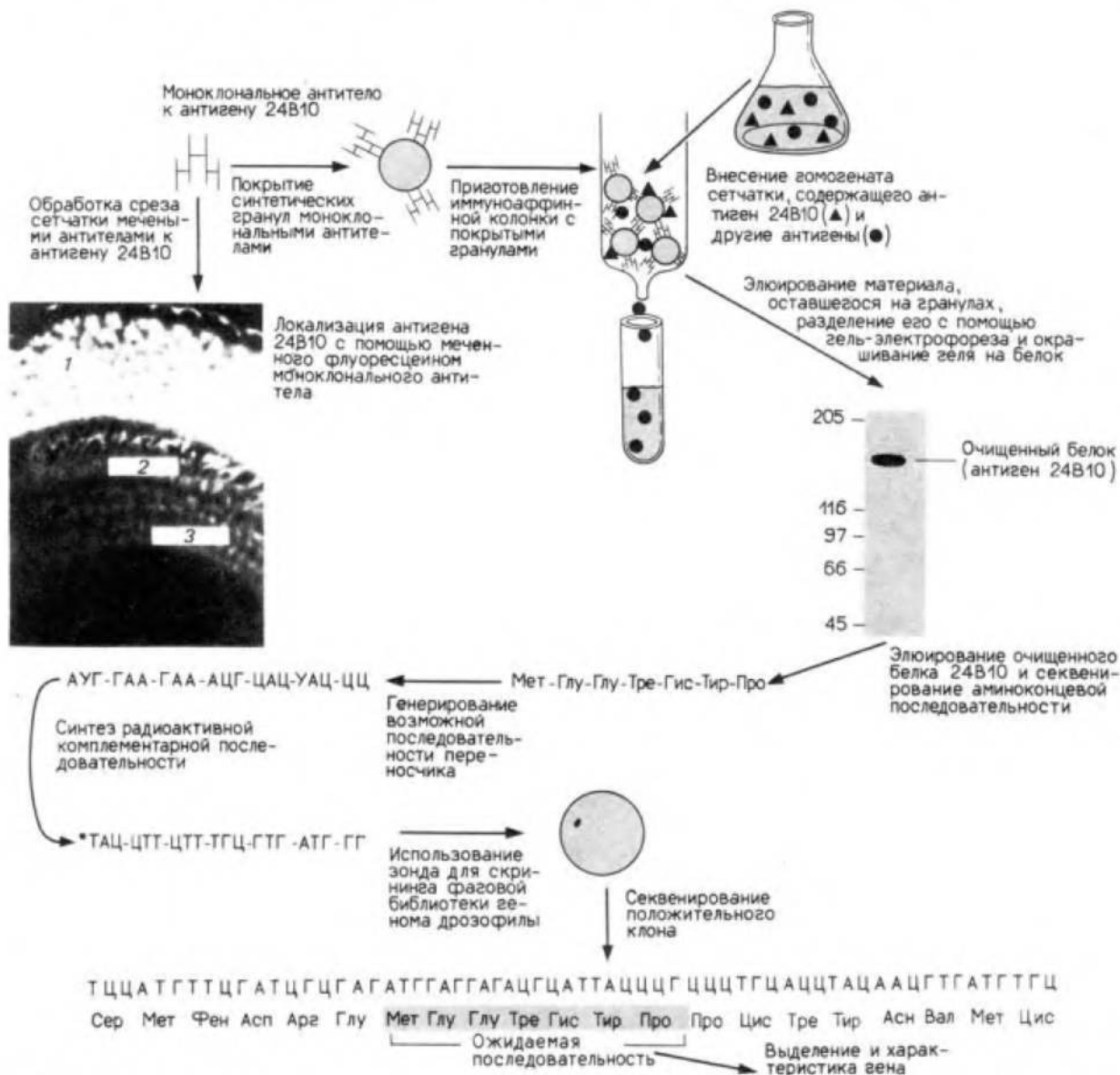


Рис. 15.24. Протокол опыта по выявлению гена, кодирующего белок, идентифицированный моноклональными антителами. Объяснения см. в тексте. 1 — сетчатка; 2 — базальная пластинка; 3 — мозг. (По Venkatesh et al., 1985; фотография с любезного разрешения S. Benzer.)

Для начала моноклональные антитела связывают с гранулами сорбента и гомогенаты сетчатки пропускают через колонку этого материала (рис. 15.24). (Она называется иммуноаффинной колонкой.) Антитела связываются только с теми антигенами, которые они узнавали изначально; затем связанный с гранулами белок элюируют с гранул (используя ионные растворы) и очищают от любых возможных примесей с помощью гелеэлектрофореза. Область геля, содержащую этот белок, вырезают, белок элюируют с гелевого матрикса и частично секвенируют. Затем синтезируют радиоактивные олигонуклеотиды, которые связались бы с последовательностью ДНК, способной кодировать данный белок. В случае белка 24B10 их использовали для скрининга библиотеки клонов рекомбинантной ДНК, содержащих области генома дрозофилы. ДНК положительного клона секвенировали, чтобы убедиться в ее соответствии последовательности исходного белка, выделенного с помощью моноклональных антител. Таким образом можно пройти путь от редкого белка, идентифицированного моноклональным антителом, до специфического участка геномной ДНК (Zipursky et al., 1984; Venkatesh et al., 1985).

Регуляция антигенов дифференцировки – важная проблема экспериментальной эмбриологии, поскольку эти молекулы, возможно, играют опре-

деляющую роль в морфогенезе. Кроме того, нарушения в регуляции таких антигенов могут иметь тяжелые последствия у взрослых. Известна серия заболеваний, называемых **паранеопластическими синдромами**; эти нарушения у взрослых иногда развиваются наряду со злокачественными новообразованиями, но, по-видимому, не вызываются непосредственно опухолью. Например, у некоторых больных с мелкоклеточной карциномой легкого развивается дегенерация сетчатки, ведущая к слепоте. Каким образом опухоль в легком может вызвать заболевание глаз? Данные, касающиеся возможного механизма этого паранеопластического синдрома приводятся в работе Грюнвальда и др. (Grunwald et al., 1985, 1987); эти авторы показали, что особый тип опухолевых клеток содержит антигены дифференцировки, обычно экспрессируемые клетками сетчатки. Иммунная система производит антитела к этому опухолевому белку (который воспринимается организмом как «чужой» из-за того, что иммунная система нормального организма не контактирует с клетками центральной нервной системы в пределах гемато-энцефалического барьера) и циркулирующие антитела разрушают клетки сетчатки. В результате нарушение регуляции антигена дифференцировки в опухолевых клетках может вызвать деструкцию той ткани, которая обычно его экспрессирует.

Молекулы клеточной адгезии

Идентификация молекул клеточной адгезии

Исследования по агрегации клеток в лабораториях Гольтфретера и Стейнберга не привели к идентификации молекул, вовлеченных в процессы дифференциальной клеточной адгезии. Рот (Roth, 1968; Roth et al., 1971a) показал, что клетки различных типов содержат разные адгезионные молекулы. Он модифицировал методику ротационной агрегации, инкубируя меченные ^3H хрящевые клетки и меченные ^{14}C гепатоциты в растворе, содержащем маленькие агрегаты немеченных хрящевых клеток. Измерив радиоактивность ^{14}C - и ^3H -меченных клеток в этих агрегатах, он обнаружил, что хрящевые агрегаты специфически захватывают клетки хряща. Подобные эксперименты, в которых выявилась такая же закономерность, были проведены также на печеночных и мышечных клетках (рис. 15.25). Таким образом, очевидно, что адгезию клеток обуславливают специфические для каждого типа клеток молекулы.

Следующий шаг – это идентификация молекул, обуславливающих клеточную адгезию, чтобы понять, каким образом такая адгезия осуществляется.

Было использовано два методических подхода. Первый состоял в поисках антител, с помощью которых можно было бы обнаружить и идентифицировать адгезионные молекулы, а в основу второго легло наблюдение, свидетельствующее о том, что для адгезии клеток часто необходим кальций; в связи с этим ряд исследователей сосредоточили свои усилия на поисках адгезионных молекул, связывающих кальций.

Антитела впервые были использованы для идентификации адгезионных молекул *Dictyostelium*. Антитела против *Dictyostelium* химически расщепляли таким образом, что от них остались лишь одновалентные антиген-связывающие участки – так называемые Fab'-фрагменты (рис. 15.26, A). (Расщеплять двухвалентные антитела необходимо потому, что они могут искусственно соединять клетки и эффект специфического связывания будет невозможно измерить.) Это привело к открытию гликопротеина с молекулярной массой 80 000 дальтон, обуславливающего адгезию при агрегации *Dictyostelium*. Для изучения адгезии эмбриональных клеток этот подход был использован Эдельманом и его коллегами (Brackenbury et al., 1977), выделившими в результате своих исследований **нейральные молекулы клеточной**

адгезии (N-МКА). В этом исследовании инъекцировав кролику клетки нейральной сетчатки пыленка, приготовили антитела к поверхности клеток нейральной сетчатки и расщепили их на Fab'-фрагменты. При добавлении Fab'-фрагментов в культуральную среду агрегация клеток нейральной сетчатки подавлялась. Добавление же к этой смеси



Рис. 15.25. Специфичность взаимодействия клетка – клетка. Агрегаты, представленные клетками одного типа, помещены в ротационную культуру, содержащую единичные клетки как того же самого (изотипические), так и другого (гетеротипические) типа. Единичные изотипические и гетеротипические клетки предварительно метили различными радиоактивными изотопами. Через 6 ч агрегаты собирали, отмывали и подсчитывали в них число изотипических и гетеротипических клеток; результаты подсчета приведены в таблице. (Данные из Roth, 1968.)

Счет радиоактивных клеток, связавшихся с агрегатом

Тип агрегата	Меченые единичные клетки в суспензии ¹⁾		
	хрящевые	гепатоциты	мышечные
Хрящ	100	6	48
Печень	10	100	0
Грудная мышца	38	49	100

¹⁾ Доля клеток (%), связавшихся с тем или иным агрегатом.

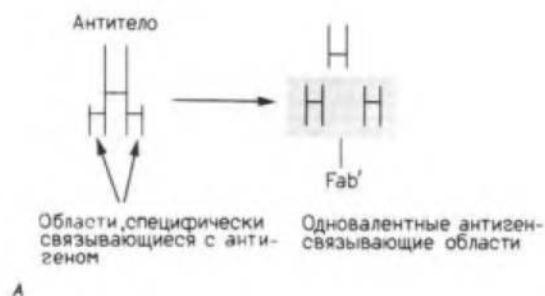
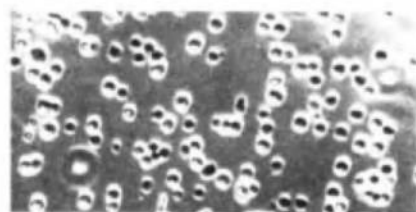
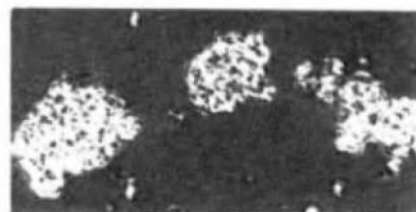


Рис. 15.26. Агрегация клеток нейральной сетчатки 10-дневного куриного зародыша. А. Получение Fab'-фрагментов антитела. Б. Единичные клетки до агрегации. В. Агрегаты, образовавшиеся через 30 мин после начала ротации. Г. Ингибирование агрегации, когда ротацию клеток сетчатки в течение 30 мин производили в присутствии Fab'-фрагментов антител к N-МКА. (Из Brackenbury et al., 1977; с любезного разрешения G. M. Edelman.)

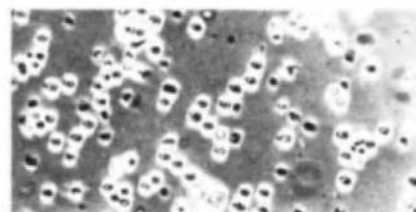
фракции мембран нейральной сетчатки вызывало связывание Fab'-фрагментов, в результате чего клетки нейральной сетчатки получали возможность агрегировать. Экстрагировав компоненты этих мембран, Тьерри и др. (Thierry et al., 1977) обнаружили, что Fab'-фрагменты связали белок с молекулярной массой 140 000 дальтон. Внесенный в раст-



Б



В



Г

вор с агрегирующими клетками сетчатки, он один ингибировал действие Fab'-фрагментов. Отсюда заключили, что белок с молекулярной массой 140 000 дальтон представляет собой компонент клеточной поверхности, выполняющий очень важную функцию в агрегации нейронов.

Второй подход к идентификации молекул клеточной адгезии был использован Такеичи и его коллегами. Эти исследователи выявили семейство белков, которым для выполнения ими адгезионных функций, а также для устойчивости к трипсину необходимы ионы кальция. Такие кальций-зависимые гликопротеины клеточной адгезии были названы **кадгеринами** (Takeichi, 1987).

Кадгерины

Молекулы клеточной адгезии (МКА) можно подразделить на три группы: *кадгерины*, адгезионные свойства которых зависят от ионов кальция, *иммуноглобулиновое сверхсемейство МКА*, у которых домены, связывающие клетки, сходны с доменами молекул антител, и, наконец, *сахаридные МКА*, у которых МКА-белки узнают углеводные остатки на соседних клетках. В табл. 15.1 перечислены некоторые из недавно открытых молекул клеточной адгезии.

Кадгерины представляют собой кальций-зависимые МКА, которые отвечают за пространствен-

ную сегрегацию клеток и организацию формы тела животного. Идентифицированы три класса кадгеринов. **Е-кадгерин** (гомологичен L-МКА цыпленка) экспрессируется всеми эмбриональными клетками млекопитающих, начиная с одноклеточной стадии. Позже распространение Е-кадгерина ограничивается эпителиальными тканями зародышей и взрослых. **Р-кадгерин** первоначально экспрессируется на внезародышевых клетках и клетках стенки матки (Nose, Takeichi, 1986). Возможно, что Р-кадгерин облегчает связь трофобласта с маткой, во всяком случае у зародышей мыши наблюдается контакт Р-кадгерина клеток матки с Р-кадгерином клеток трофобласта (Kadokawa et al., 1989). **Н-кадгерин** впервые обнаруживается на мезодермальных клетках зародыша во время гаструляции по мере утраты ими экспрессии Е-кадгерина (Hatta, Takeichi, 1986). Мигрирующие клетки нервного гребня не экспрессируют ни N- ни Е-кадгеринов, но, когда эти клетки приступают к реэмиграции, экспрессия N-кадгерина возобновляется. N-МКА и N-кадгерин часто обнаруживаются на одних и тех же клетках, но в разных областях зародыша. Так, в нервной трубке N-МКА концентрируется на нейроэпителиальных клетках, располагающихся вблизи наружной границы, тогда как N-кадгерин выявляется на клетках, выстилающих просвет (Hatta et al., 1987; Rutishauser, Jessell, 1988). Появление и исчезновение N-кадгерина часто наблюдается в местах активных клеточных перестроек, например при разрывании сомита: когда склеротом и дерматом начинают отделяться от эпителиальных структур сомита, они теряют свой N-кадгерин (Hatta et al., 1987). Клетки, экспрессирующие N-кадгерин, легко обособляются от N-кадгерин-отрицательных клеток *in vitro*, а Fab-антитела против кадгеринов превращают трехмерный гистотипический агрегат клеток в монослой (Takeichi et al., 1979). При трансфекции генов Е-кадгерина и экспрессии их в культуре фибробластов мыши (которые обычно не экспрессируют этого белка) Е-кадгерин обнаруживается на поверхности фибробластов, которые плотно соединяются друг с другом (Nagafuchi et al., 1987).

Дифференциальной экспрессией кадгеринов можно объяснить данные по гомотипической сегрегации, представленные выше. Например, клетки печени стремятся объединиться с себе подобными — клетками печени, а клетки сетчатки точно так же собирают клетки сетчатки. Было показано (Takeichi, 1987), что клетки сетчатки экспрессируют N-кадгерин, а клетки печени — Е-кадгерин; основываясь на этом можно сказать, что сегрегация клеток является следствием различий в экспрессии кадгеринов. Наблюдения Таунса и Гольфреттера также можно объяснить дифференциальной экспрессией кадгеринов. Подтвердилось это в экспериментах по трансфекции различных кадгериновых генов в фибро-

Таблица 15.1. Общая классификация основных молекул клеточной адгезии (МКА)

Класс	МКА
Кадгерины (кальций-зависимые МКА)	N-кадгерин (известен также как А-МКА) Р-кадгерин Е-кадгерин (известен также как L-МКА, увоморулин)
Имуноглобулиновое сверхсемейство МКА	N-МКА Ng-MKA (известна также как L1, NILE) Нейрофасцин TAG-1 LFA-1 Гликопротеин CD4 (рецептор HIV)
Сахарид-опосредованные МКА	Биндин Галактозилтрансфераза спермиев мыши N-ацетилгалактозилтрансфераза нейральной сетчатки Ламинин-гепарансульфатный рецептор нейритов Проакрозин Галактозилтрансфераза gp90 ^{mel} компактизации зародыша мыши (рецептор хоминга лимфоцитов)

бласты мышцы, которым вообще не свойственна экспрессия каких бы то ни было кадгеринов. В результате этих трансфекций была выявлена дифференциальная экспрессия фибробластов: те из них, что экспрессировали Е-кадгерин, прилипали к фибробластам, несущим Е-кадгерин, а фибробласты, экспрессирующие Р-кадгерин, прилипали к другим, несущим Р-кадгерин. Кроме того, при рекомбинации диссоциированной ткани эмбрионального легкого в присутствии нормальных фибробластов и фибробластов, несущих Е-кадгерин, было обнаружено, что последние включаются в состав эпителиальных легочных трубочек (которые в норме экспрессируют Е-кадгерин), тогда как нормальные, нетрансфицированные фибробласты ассоциируются с клетками мезенхимы (не экспрессирующими каких-либо кадгеринов) (Nose et al., 1988).

Все эксперименты, о которых говорилось выше, были выполнены на клетках в культуре. Но недавно появилось сообщение (Fujimori et al., 1990) об исследованиях *in vivo*. мРНК N-кадгерина цыпленка инъецировали в один из бластомеров двухклеточного зародыша *Xenopus*. Нейрулы, экспрессирующие дополнительный N-кадгерин, часто отличались плотными скоплениями клеток и утолщенными клеточными слоями. В некоторых случаях, когда и эпидермис, и нервная трубка экспрессировали этот дополнительный N-кадгерин, нервная трубка не отделялась от эпидермиса. Следовательно, можно полагать, что кадгеринам принадлежит ведущая роль при объединении клеток в ткани.

Молекулы кадгеринов имеют три главных домена: внеклеточный домен, который обуславливает

адгезию, трансмембранный домен, пронизывающий мембрану клетки, и цитоплазматический домен. Сайт-специфический мутагенез клонированных генов Е-кадгерина показал, что для функционирования кадгерина критическое значение имеет цитоплазматический домен. Эта область связывает кадгерин с цитоскелетом (Nagafuchi, Takeichi, 1989), указывая на механизм, с помощью которого внеклеточное связывание может влиять на форму клетки и ее поведение.

Иммуноглобулиновое сверхсемейство МКА

Многие молекулы клеточной адгезии, не нуждающиеся для своего функционирования в ионах кальция, имеют очень сходную структуру (рис. 15.27). Эта структура с ее внеклеточными глобулярными доменами удерживается дисульфидными мостиками и напоминает структуру молекул иммуноглобулинов, что послужило основанием для предположения о происхождении иммуноглобулинов от этой группы молекул клеточной адгезии (Williams, Barclay, 1988; Lander, 1989). Поэтому такие гликопротеины и называют «иммуноглобулиновым сверхсемейством».

Из всех молекул клеточной адгезии наиболее полно охарактеризованы N-МКА. Несмотря на то что белок N-МКА кодируется одним геном на гаплоидный геном, он может быть представлен молекулами трех размеров, что объясняется дифференциальным сплайсингом РНК. Доминирующие формы – белки с молекулярной массой 180 000 дальтон и 140 000 дальтон, содержащие три домена:

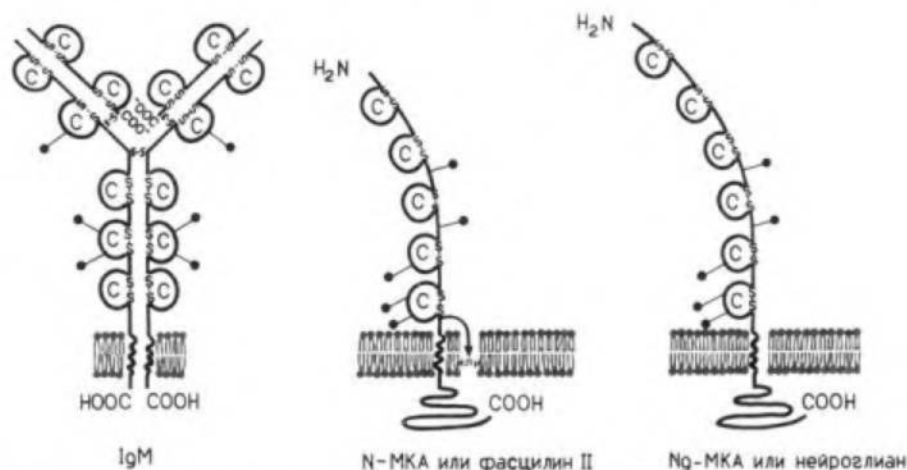


Рис. 15.27. Три члена «иммуноглобулинового сверхсемейства». Молекула IgM состоит из двух тяжелых цепей, каждая из которых включает пять доменов, и двух легких, включающих по два домена. N-МКА представлена единственной полипептидной цепью с пятью доменами. Ее закоривание в мембране происходит либо с помощью трансмембранного аминокислотной последовательности белка, либо с помощью липида. Ng-МКА является трансмембранным белком с шестью глобулярными доменами. У насекомых молекула клеточной адгезии фасцилин II и нейроглиан представляют собой соответственно N-МКА и Ng-МКА.

внеклеточный домен; домен, пронизывающий мембрану, и цитоплазматический домен. (Белок с молекулярной массой 120 000 дальтон не проходит через мембрану и, по-видимому, представлен лишь внеклеточным доменом, ковалентно связанным с мембранным липидом.) Белок с молекулярной массой 180 000 дальтон может связываться с Ng-MKA, другие формы этим свойством не обладают (Edelman, 1986).

Полагают, что N-MKA соседних клеток взаимодействуют друг с другом, образуя мостики между клетками. Содержащие N-MKA клетки нейральной сетчатки могут связываться с липидными пузырьками, содержащими в своем бислое N-MKA. Если Fab'-фрагменты анти-N-MKA нанести на клетки сетчатки, то они оденут только N-MKA. В результате обработанные таким образом клетки сетчатки теряют способность связывать липидные пузырьки, содержащие в мембранах N-MKA (Rutishauser et al., 1982). Данные электронно-микроскопических исследований подтверждают, что N-MKA могут взаимодействовать друг с другом, образуя сложные многомерные структуры (Hall, Rutishauser, 1987). Таким образом, N-MKA обуславливают адгезию клеток лишь в том случае, когда все они несут на своей поверхности N-MKA. Каждый контакт между клетками опосредован многочисленными взаимодействиями N-MKA.

N-MKA могут выполнять различные функции в зависимости от содержания в них остатков сиаловой кислоты. Сиаловая кислота представляет собой сложный (10-углеродный) сахарид, образующийся при взаимодействии D-маннозы с пируватом и несущий отрицательный заряд. Высокогликозилиро-

ванная N-MKA содержит по массе около 30% сиаловой кислоты, менее гликозилированная — около 10%. Различия между этими молекулами, по-видимому, обусловлены длиной полимеров сиаловой кислоты (Hoffman, Edelman, 1983). Молекулы сиаловой кислоты ковалентно связаны с белком N-MKA в трех сайтах по середине молекулы в пределах внеклеточного домена (Cunningham et al., 1983).

Сиаловые кислоты способны резко уменьшить адгезивность клеток в отношении друг друга. Клетки с относительно низким содержанием сиаловой кислоты на своих N-MKA агрегируют в четыре раза легче, чем клетки с высоким уровнем сиаловой кислоты (Hoffman, Edelman, 1983). По мере развития зародыша большая часть белков N-MKA из форм с высоким содержанием сиаловой кислоты превращается в формы с ее низким содержанием (Rieger et al., 1985; Chuong, Edelman, 1985a, b).

Вероятно, морфогенетические процессы межклеточного взаимодействия обусловлены комбинациями молекул клеточной адгезии. Так, адгезию аксонов к культивируемым мышечным клеткам можно ингибировать добавлением только целой комбинации антител против N-MKA, N-кадгерина и интегрин (об этом фибронектиновом рецепторе речь пойдет ниже в этой главе). Миграция клеток-зерен по глиальным клеткам мозжечка также, по-видимому, контролируется специфическими комбинациями MKA, действующими на разных уровнях мозжечка (Bixby et al., 1987; Chuong et al., 1987). Таким образом N-MKA могут играть роль как в стимуляции двух соседних клеток к образованию областей контакта, так и в ингибировании таких контактов. Если обе соседние клетки экспрессируют

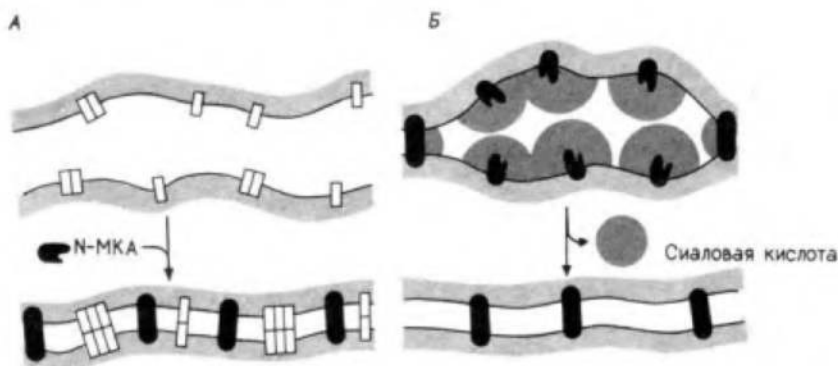


Рис. 15.28. Два механизма, с помощью которых N-MKA могут регулировать адгезию типа «клетка-клетка». А. Экспрессия N-MKA с низким содержанием сиаловой кислоты на соседних клеточных поверхностях ведет к образованию многочисленных мостиков между N-MKA, что способствует сборке специализированных клеточных контактов из соответствующих субъединиц (изображены в виде удлиненных овалов) на этих противоположных клеточных поверхностях. Б. Высокогликозилированные формы N-MKA могут ингибировать взаимодействие между клетками, возникающее благодаря каким-то другим адгезивным молекулам (представленным в виде сфер и фигур с сочленяющимися поверхностями) на противоположных клеточных мембранах. Если удалить остатки сиаловой кислоты, то клетки слипаются. (По Rutishauser et al., 1988.)

N-MKA с низким содержанием сиаловой кислоты, то клеточная адгезия стимулируется. Если же клетки содержат высокосиализированные формы N-MKA, то клеточная адгезия подавляется (рис. 15.28; Ruitishauser et al., 1988).

Распределение молекул клеточной адгезии

Пространственно-временное распределение MKA можно продемонстрировать с помощью флуоресцирующих антител. У куриного зародыша в начале гаструляции N-MKA и L-MKA экспрессируются на всех клетках. Однако при индукции нервной пластинки происходят резкие изменения. Клетки нервной пластинки экспрессируют N-MKA, а окружающие клетки эктодермы — только L-MKA (рис. 15.29; Edelman et al., 1983). При последующем развитии наблюдаются модуляции этих молекул в связи с индукцией или реорганизацией тканей. Так, клетки нервного гребня, изначально содержащие на своей поверхности N-MKA, при переходе к миграции утрачивают N-MKA и затем вновь их экспрессируют при формировании ганглиев (Crossin et al., 1985; Edelman, 1985). После того как нейральная индукция произойдет и на нейральных производных экспрессия L-MKA уменьшится, на клетках нервной трубки появляются N-MKA, а другая адгезионная молекула — Ng-MKA в избытке экспрессируется на нейронах, миграция которых направляется по поверхности глии (Thiery et al., 1985; Daniloff et al., 1986).

Дифференциальная экспрессия MKA чрезвычайно важна на границах между двумя группами кле-

ток. В этих местах организм распределяет разные клетки по разным областям. Клетки хорды не входят в состав нервной трубки, а клетки дермы не проникают в эпидермис. Такая сегрегация может сопровождаться экспрессией различных MKA клетками соседствующих клеточных популяций. Как будет показано в следующей главе, индукция перьев происходит в связи с конденсацией мезенхимных клеток мезодермального происхождения, которые образуют шарообразные клеточные скопления непосредственно под эпидермисом кожи куриного зародыша. Эктодермальные клетки связаны вместе L-MKA, а MKA-отрицательные клетки собираются в агрегат, экспрессирующий N-MKA (рис. 15.30). На протяжении всего развития пера разные группы клеток отделяются друг от друга в результате того, что они приобретают способность экспрессировать либо N-MKA, либо L-MKA, либо и тот, и другой белок вместе (Chuong, Edelman, 1985a, b).

В дополнение к тому, что MKA могут создавать и поддерживать границы между клетками разных типов, они могут служить и для объединения клеток разных типов. Эта их функция особенно важна при установлении связи аксона с соответствующим органом-мишенью, для чего также используются N-MKA. Было показано (Tosney et al., 1986), что мышечные клетки начинают экспрессировать на своих мембранах N-MKA ко времени появления вблизи них аксона, несущего N-MKA. Но как только между нервом и мышцей образуется синапс, единственным местом на мышце, где продолжается экспрессия N-MKA, останется нервно-мышечное соединение (Covault, Sanes, 1986). Если на специ-

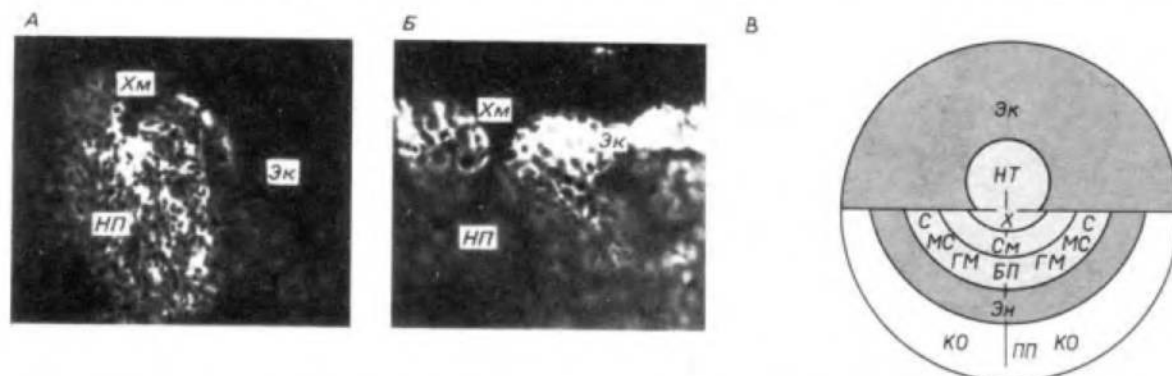


Рис. 15.29. Изменения в распределении MKA нейрулирующего куриного зародыша. Зародыши окрашены флуоресцирующими антителами к N-MKA (А) и L-MKA (Б). N-MKA представлен в больших количествах в хордомезодерме (Хм) и нервной пластинке (НП), но не обнаруживается в эпидермальной эктодерме. L-MKA, напротив, вначале выявляются в кожной эктодерме, но отсутствуют в нервной пластинке. Перед нейруляцией и N-MKA, и L-MKA присутствовали на каждой из клеток этих типов (не показано). В. Проспективная карта зачатков куриного зародыша, на которой обозначены области, экспрессирующие различные MKA. Более темным цветом выделены области, экспрессирующие L-MKA; светлосерым цветом обозначены области, экспрессирующие N-MKA. Эк — эктодерма; Эн — энтодерма; КО — кроветворная область; БП — боковая пластинка; ПП — первичная полоска; НТ — нервная трубка; Х — хорда; См — сомит; ГМ — гладкая мускулатура; МС — мочеполовая система. Для областей, из которых развивается гладкая мускулатура и кровь, пока нельзя привести каких-либо известных MKA, которые бы с ними связывались. (Из Edelman, 1985.)

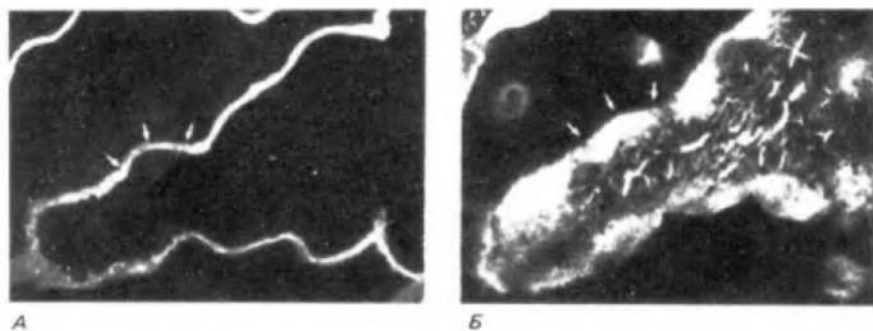


Рис. 15.30. Распределение различных молекул, обуславливающих адгезию клеток, на границах между тканями. А. Эпидермис кожи и плакоды пера окрашены антителами к L-MKA. Б. По мере того как мезодермальные клетки собираются для индукции в эктодерме зачатка пера, агрегирующие клетки мезенхимы экспрессируют N-MKA. (Из Chuong, Edelman, 1985a; фотография с любезного разрешения G. M. Edelman.)

фические области развивающегося зародыша поддействовать антителами против N-MKA, то связь между нейроном и его тканью-мишенью будет катастрофически нарушена. Фрейзер и др. (Fraser et al., 1988) показали, что антитела к N-MKA нарушают узнавание аксонами сетчатки лягушки их специфических мишеней в зрительном тектуме мозга. Ландmesser и др. (Landmesser et al., 1988) получили сходные результаты, свидетельствующие о воздействии антител против N-MKA на иннервацию скелетных мышц у куриного зародыша. В обоих случаях эффект антител можно объяснить тем, что они мешают N-MKA выполнить свою функцию по

связыванию нейронов и поддержанию связей, установившихся между нейронами и их тканями-мишенями.

Если некоторые МКА распространены в зародыше практически повсеместно, то распространение других ограничено. Эти последние молекулы клеточной адгезии, как полагают, экспрессируются в течение очень ограниченного времени и в очень специфических областях зародыша, отчего их идентификация и описание свойств затруднены. Некоторые из этих МКА обуславливают миграцию аксонов в одном и том же направлении для совместного объединения. Процесс объединения аксонов назы-

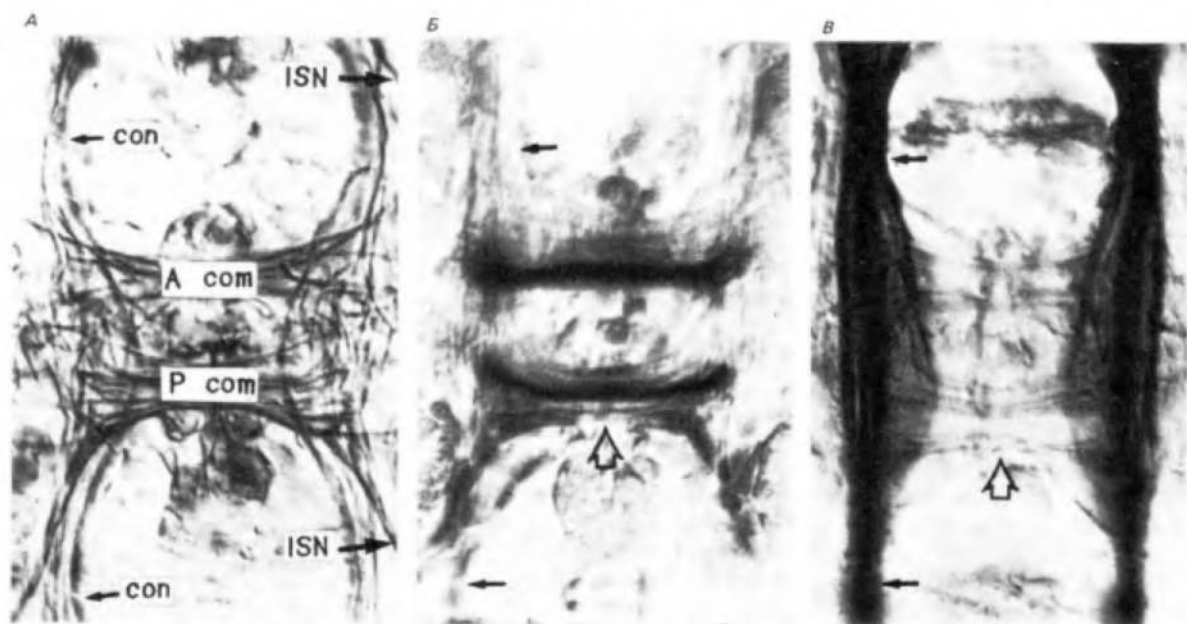


Рис. 15.31. Экспрессия фасцилина в развивающейся нервной системе кузнечика. А. Переплетение фасцилированных аксонов у зародыша кузнечика, выявляемое с помощью микроскопии по Номарскому. А com и Р com – передняя и задняя комиссуры, аксоны которых пересекают сегмент; ISN – межсегментарный нейрон; con – связующий нейрон. Б, В. То же, что на А, но препарат окрашен моноклональными антителами против фасцилиновых гликопротеинов клеточной поверхности. Антитела на Б узнают набор аксонов в передней и задней комиссурах, тогда как антитела (на В) связываются с мембранным гликопротеином продольных пучков аксонов. Стрелки указывают на одни и те же структуры на Б и В. Обратите внимание на то, что антитела окрашивают только часть каждого аксона. (Из Bastiani et al., 1987; фотография с любезного разрешения C. Goodman.)

вается **фасциляцией**; возникающий в результате этого процесса пучок аксонов образует нерв. (Зрительный нерв, например, представляет собой фасцилированный пучок аксонов, отходящих от ганглиозных клеток нейральной сетчатки.) Как будет описано в гл. 17, у насекомых аксон может менять направление роста, когда достигает другого аксона, и перемещаться по поверхности последнего. Это явление возможно лишь при условии, что оба аксона на поверхности своих клеточных мембран содержат одни и те же адгезивные молекулы. Полагают, что у насекомых на поверхности аксона имеется много таких молекул и что эти поверхностные молекулы различны в разных местах по длине аксона (Bastiani et al., 1985, 1987). Такие поверхностные компоненты названы **фасцилинами** (рис. 15.31); некоторые из них относятся к иммуноглобулиновому сверхсемейству (Hargreaves, Goodman, 1988).

Клеточная адгезия, обусловленная сахарами

В середине сороковых годов Вейс (Weiss) и Тайлер (Tyler) независимо друг от друга высказали предположение, что поверхностные молекулы соседних клеток взаимодействуют друг с другом по типу «ключ-замок», передавая таким образом пространственную информацию для дальнейшего развития. Оба этих автора считали, что взаимодействия между специфическими комплементарными молекулами отвечают за связи, устанавливающиеся между движущимися клетками при формировании органов. В 1970 г. Роузмен (Roseman) постулировал, что молекулы, ответственные за эти взаимодействия, относятся к подклассу ферментов, называемых **гликозилтрансферазами**. Эти связанные с мембраной ферменты обычно обнаруживаются в эндоплазматическом ретикулууме и в пузырьках Гольджи, где они катализируют присоединение остатков сахаров к пептидам, в результате чего образуются гликопротеины. Существует огромное число гликозилтрансфераз, причем каждая специфична в отношении определенного сахара; некоторые трансферазы специфичны и в отношении субстрата. Например, галактозилтрансфераза — это фермент, способный переносить галактозу от активированной донорской молекулы (УДФ-галактозы) к акцептору. Сродством к различным акцепторным молекулам может обладать несколько галактозилтрансфераз.

Присутствие галактозилтрансфераз на клеточной поверхности можно обнаружить несколькими способами. Один из них заключается в добавлении меченого сахара в активированной форме. Меченый сахар будет перенесен на поверхность клетки и станет нерастворимым, после чего его можно выявить

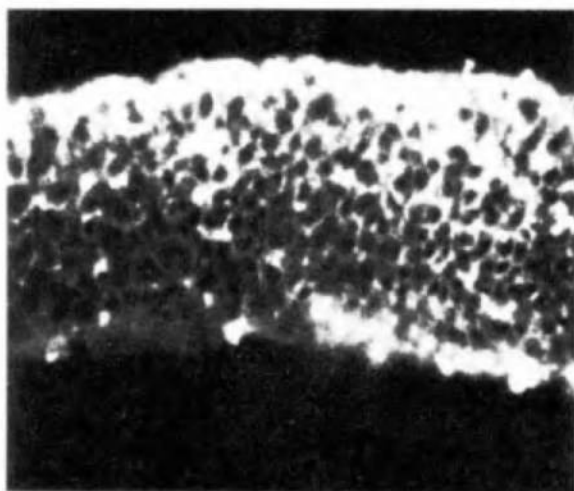
с помощью радиоавтографии (рис. 15.32) (Roth et al., 1971b; Shur, 1977a). После инкубации клеток нейральной сетчатки с радиоактивным УДФ-галактозином около 90% меченого галактозамина было обнаружено на клеточных поверхностях (Balsamo et al., 1986). Другой способ выявления галактозилтрансферазы связан с использованием флуоресцирующих антител, полученных против этого фермента. Этот метод позволил обнаружить, что галактозилтрансфераза нейральной сетчатки сначала распределяется по всей нейральной сетчатке зародыша, а затем ограничивается лишь ее наружными слоями (рис. 15.33).

На рис. 15.34 представлены два типа возможных реакций с участием галактозилтрансфераз клеточной поверхности. В первом случае связывание между двумя клетками достигается путем взаимного узнавания галактозилтрансфераз и остатков сахара (акцепторов). Эта реакция и представляет собой адгезию, о которой шла речь в гл. 2 при обсуждении взаимодействий между галактозилтрансферазой клеточной поверхности спермия и углеводными компонентами *zona pellucida* (являющейся внеклеточным матриксом яйца млекопитающих). В дополнение к адгезионным реакциям следует упомянуть и о временном связывании клетки с субстратом (т.е. об узнавании субстрата мигрирующими клетками) благодаря наличию активированного сахара. Такая адгезия и катализ могут происходить как между двумя клетками, так и между галактозилтрансферазой клеточной поверхности и субстратом, например базальной пластиной, по которой мигрируют клетки.

Накапливается все больше данных о том, что гликозилтрансферазы опосредуют перемещение клеток, характерное для гаструляции и морфогене-



Рис. 15.32. Радиоавтограмма куриного зародыша на стадии 10 сомитов, инкубированного с УДФ- ^{3}H -галактозой (служашей донором сахара). Нерастворимая радиоактивность (черные зерна) означает, что радиоактивный сахар был перенесен на поверхности мигрирующих клеток на другие клетки или на окружающий их матрикс. (Из Shur, 1977a; фотография с любезного разрешения B. D. Shur.)



А



Б

Рис. 15.33. А. Моноклональные антитела к галактозилтрансферазе клеточной поверхности (эта галактозилтрансфераза способна переносить N-ацетилгалактозаминфосфат) связываются с мембранами клеток нейральной сетчатки 10-дневного куриного зародыша. Б. После выплывания цыпленка галактозилтрансфераза локализуется в наружных слоях. (Из Balsamo et al., 1986a; фотография с любезного разрешения G. Grunwald.)

за. В ходе этих процессов клетки мигрируют по углеводным субстратам, в частности по гликозаминогликанам (Toole, 1976). Шур (Shur, 1977a, b) показал, что на поверхности мигрирующих клеток гастрულიрующего куриного зародыша наблюдается высокая активность гликозилтрансферазы (рис. 15.32). Мигрирующие клетки первичной полоски и клетки нервного гребня включают в состав своей поверхности некоторые сахара от сахаросодержащих нуклеотидов (о чем свидетельствовали данные радиоавтографии). Шур полагает, что мигрирующие клетки используют свои гликозилтрансферазы в качестве рецепторов для олигосахаридов субстрата. Адгезия в таком случае, вероятнее всего, осуществляется путем специфических взаимодействий типа ключ-замок между субстратом и гликозилтранс-

феразой. По мере продвижения клетки эти мостики разрушаются в результате каталитического включения нового углеводного остатка (рис. 15.35). Такие гликозилтрансферазные белки обнаружены на ламеллоподиях мигрирующих клеток мезенхимы и на конусах роста удлиняющихся аксонов (Eckstein, Shur, 1989; Begovac, Shur, 1990). Эта гликозилтрансфераза узнает специфические олигосахариды на ламинине базальной пластинки. Если этот фермент удалить или изменить его специфичность, то нейроны не простирают своих отростков по ламинину, и мезенхимные клетки перестают мигрировать.

Из этой модели следуют два вывода: 1) добавление активированных сахаров должно нарушать нормальное развитие и 2) мигрирующие клетки должны оставлять на субстрате, по которому миг-

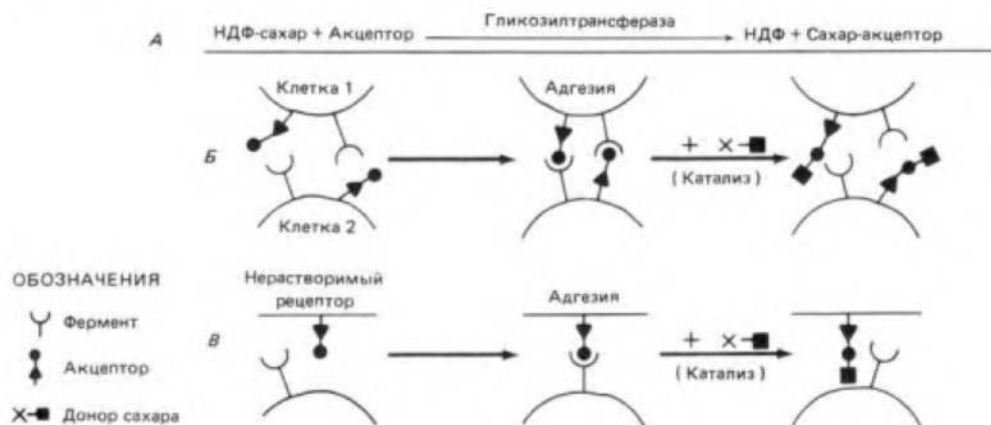


Рис. 15.34. Реакции с участием гликозилтрансферазы. А. Стандартная гликозилтрансферазная реакция, при которой происходит перенос сахара от нуклеотидного носителя (НДФ) к акцептору. Б, В. Межклеточные реакции, которые могут быть опосредованы гликозилтрансферазами клеточной поверхности (см. текст). В отсутствие активированного сахара произойдет адгезия (полагают, что этот процесс имеет место при оплодотворении). (По Pierce et al., 1980.)

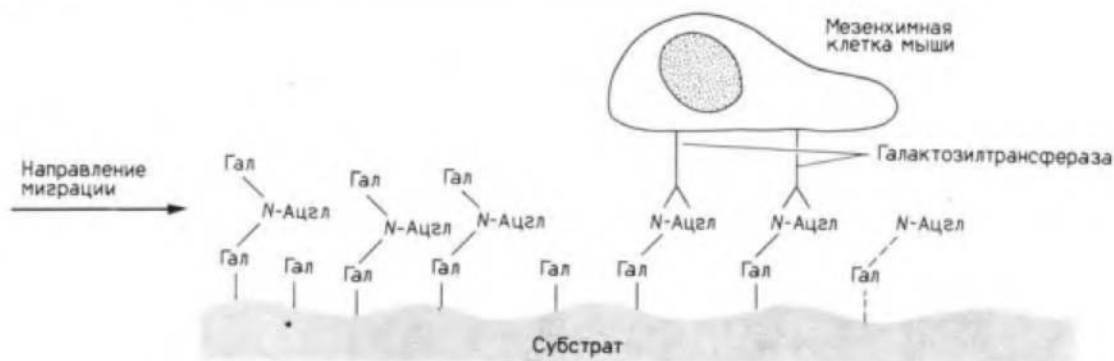


Рис. 15.35. Модель механизма миграции мезенхимных клеток зародыша мыши. Клетка мигрирует по субстрату, содержащему экспонированные остатки галактозо-N-ацетилглюкозамина. Узнавание клетками субстрата и присоединение к нему осуществляется с помощью галактозилтрансферазы, локализуемой на клеточной поверхности. Клетки перемещаются в результате ферментативного присоединения галактозы к этим экспонированным на субстрате остаткам, что приводит к отделению клетки от субстрата и дает возможность ферментам клеточной поверхности находить на субстрате новые негалактозиллированные сайты. (Из Shur, 1982.)

рируют, новые углеводные группы. И в самом деле, добавление больших количеств углеводсодержащих нуклеотидов к развивающимся зародышам нарушает нормальное развитие (Shur, 1977a, b; Shur et al., 1979). Непосредственная причина этих аномалий не выявлена, однако самое простое объяснение может заключаться в том, что сахара нуклеотидов взаимодействуют с гликозилтрансферазами клеточной поверхности. Если клетки предварительно пометить радиоактивной галактозой, то при миграции по субстрату, содержащему гликозаминогликаны, они оставляют на нем углеводные группы (Turley, Roth, 1979). При использовании различных гликозаминогликанов было показано, что чем сильнее метятся клетки, тем менее активной становится миграция. Степень миграции, кроме того, зависит от количества экспонированных на субстрате углеводных групп. Большое число сайтов связывания может давать прочную адгезию, замедляя тем самым миграцию. Некоторые мигрирующие клетки (например, клетки нервного гребня) могут использовать свои гликозилтрансферазы для связывания гликопротеиновых компонентов естественных базальных пластинок (Runyan et al., 1986a, b).

Гликозилтрансферазы могут обеспечивать как адгезию, так и миграцию. В гл. 2 упоминалось о том, что гликозилтрансфераза клеточной мембраны спермия мыши узнает лактозаминовые последовательности zona pellucida яйца. Во время дробления связывание гликозилтрансферазы и лактозамина обуславливает адгезию ранних бластомеров (Bayna et al., 1986) и частично адгезию между клетками матки (Dutt et al., 1987).

Таким образом, клеточная мембрана располагает несколькими механизмами, позволяющими ей прикрепляться к мембранам других клеток. Она

может использовать кальций-независимые молекулы клеточной адгезии, кальций-зависимые молекулы клеточной адгезии, адгезионные молекулы ограниченного действия и гликозилтрансферазы. И этим число механизмов не исчерпывается. Как уже кратко упоминалось выше, клетки могут специфически связываться с особыми компонентами внеклеточного матрикса. К рассмотрению этих компонентов мы и перейдем в следующем разделе.

Морфогенез путем взаимодействия между клеткой и субстратом

Внеклеточный матрикс

Помимо всего прочего, клетки синтезируют макромолекулы, которые выделяются во внеклеточные пространства и обуславливают взаимодействия между клетками и их окружением. Такие молекулы называют **адгезионными молекулами субстрата**; они формируют **внеклеточный матрикс**. Роль различных видов матрикса в развитии многообразна. В одних случаях матрикс разделяет две соседние группы клеток и препятствует любым взаимодействиям между ними. В других случаях внеклеточный матрикс может служить субстратом, по которому клетки мигрируют, или даже индуцировать дифференцировку клеток некоторых типов. Один из видов матрикса представлен на рис. 15.36. Здесь пласт эпителиальных клеток лежит на слое рыхлой мезенхимной ткани. Эпителиальные клетки образовали плотный внеклеточный слой, называемый **базальной пластинкой**, а мезенхимные клетки образовали рыхлую **ретикулярную пластинку**. Оба этих слоя вместе составляют **базальную мембрану** пласта эпителиальных клеток. В состав внеклеточного матрикса вхо-



Рис. 15.36. Локализация и формирование внеклеточного матрикса у куриного зародыша. Внеклеточный матрикс в месте соединения эпителиальных (вверху) и мезенхимных клеток (внизу). Эпителиальные клетки секретируют базальную пластинку, а мезенхимные клетки – ретикулярную пластинку, образованную преимущественно из коллагена. (Фотография с любезного разрешения R. L. Trelsted.)

дят три основных компонента: коллаген, протеогликаны и гликопротеины.

Коллаген – это семейство гликопротеинов, содержащих в большом количестве остатки глицина и пролина. Выше мы уже говорили о том, что многие пролиновые и лизиновые группы подвергаются посттрансляционной модификации с образованием гидроксипролина и гидроксисицина. Являясь главной структурной опорой почти любого органа животных, коллаген составляет примерно половину общего белка тела. Большая часть коллагена (до 90%) обнаруживается во внеклеточном матриксе кожи, сухожилий и костей; этот коллаген относят к типу I. Существуют многочисленные иные типы коллагена, которые выполняют особые функции (табл. 15.2). Коллаген типа II секретируется главным образом хрящевыми клетками, но его обнаруживают также в хорде и в стекловидном теле глаза. Коллаген типа III в основном содержится в кровеносных сосудах, а IV и V обнаруживается в различных базальных пластинках, выделяемых эпителиальными клетками (Vuorio, 1986). В последующих главах будет рассмотрена морфогенетическая роль различных типов коллагена при ветвлении зачатков органов и в процессе дифференцировки роговицы.

Протеогликаны – особый тип гликопротеинов, у которых: 1) масса углеводных остатков значительно превосходит массу белка и 2) углеводы представлены линейными цепями повторяющихся дисахаридов. Обычно один из сахаров дисахарида имеет аминогруппу, поэтому повторяющуюся единицу называют **гликозаминогликаном**. В табл. 15.3 дан перечень обычных гликозаминогликанов, а основная структура протеогликана показана на

рис. 15.37. Взаимосвязанные белок и углевод формируют напоминающий паутину матрикс, и во многих случаях протеогликаны, окружая подвижные клетки, препятствуют их сближению (рис. 15.38). Консистенция внеклеточного матрикса зависит от соотношения коллагена и протеогликана. Хрящ, характеризующийся высоким содержанием протеогликанов, мягок, тогда как связки, в которых преобладают коллагеновые волокна, достаточно жестки. В базальных пластинках доминируют протеогликаны; образуя структурную опору, они выполняют здесь еще и роль молекулярного сита.

Один из таких протеогликанов – **синдекан** – представляет собой белок с молекулярной массой 33 000 дальтон, несущий хондроитинсульфатные и гепарансульфатные гликозаминогликаны. Он обнаружен в клеточной мембране и особенно выражен на базальной поверхности эпителиальных клеток в местах их контакта с базальной пластинкой. Заякоренный в клеточной мембране, синдекан может прикрепляться к фибронектину и к коллагену разных

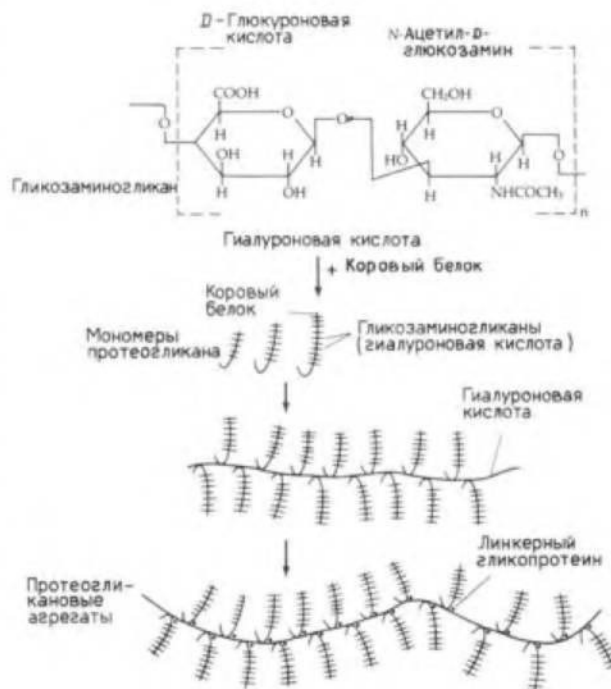


Рис. 15.37. Строение субъединицы и сборки сложного протеогликана. Повторяющийся дисахарид гликозаминогликан (в данном случае гиалуроновая кислота; см. табл. 15.2) прикрепляется к относительно небольшому коровому белку, образуя протеогликановые цепи. Эти цепи могут связываться друг с другом в более длинные гликозаминогликаны (в данном случае также гиалуроновая кислота), формируя сложные сети, которые стабилизируются линкерными гликопротеинами. (По Cheney, Lash, 1981.)

Таблица 15.2. Структурная и функциональная гетерогенность коллагена

Тип коллагена	Признаки и функция	Локализация
I	Низкое содержание углеводов Толстые, плотно упакованные, с периодичностью 67 нм фибриллы, обуславливающие натяжения высокой силы; наиболее распространенный коллаген	Кожа, кость, сухожилия
II	Высокое содержание углеводов Небольшие, с периодичностью 67 нм фибриллы образуют упругий, эластичный матрикс	Хрящ, стекловидное тело
III	Высокое содержание углеводов Трехспиральные, с дисульфидными мостиками Небольшие, с периодичностью 67 нм фибриллы, обеспечивающие опору и эластичность	Кожа, кровеносные сосуды, внутренние органы Базальные мембраны
IV	Образуют сети, служащие для прикрепления клеток; обеспечивают избирательную проницаемость. Связываются с ламинином Фибриллы отсутствуют	
V	Содержит большое количество коллагена Гибкие, с периодичностью 67 нм фибриллы Функция не известна	Перицеллюлярное пространство
VI	Микрофибриллы с периодичностью от 105 до 110 нм; фибрилл нет Закоривает нервы и кровеносные сосуды в тканях	Кровеносные сосуды, почки, кожа, плацента, мышцы, печень
VII	Длинные цепи коллагена Участвует в закоривании фибрилл	Хориоамниотические оболочки
VIII	Три коллагеновых домена, связанные в виде тандема двумя неколлагеновыми доменами; фибрилл нет Функция не известна	Эндотелиальные клетки, внеклеточный матрикс различных типов, образуемый клетками нервного гребня
IX	Содержит три коллагеновых, четыре неколлагеновых домена и прикрепляет гликозаминогликаны Функция не известна; цепи короткие	Подразделения коллагена типа II в хряще
X	Короткие коллагеновые цепи Функции в минерализации коллагена	Гипертрофированный (зона роста) хрящ
XI	Три цепи Функция не известна	Хрящ
XII	Обнаружен путем клонирования кДНК Функция не известна	Хрящ
XIII	Обнаружен путем клонирования кДНК Функция не известна	Хрящ, кость, эпидермис, скелетная мускулатура

Источники: Vuorio, 1986; Hostikka, 1990.

Таблица 15.3. Повторяющиеся дисахаридные единицы наиболее обычных гликозаминогликанов (ГАГ) в протеогликанах матрикса

ГАГ	Повторяющаяся дисахаридная единица	Распространение
Гиалуроновая кислота	Гиалуроновая кислота- <i>N</i> -ацетилглюкозамин	Соединительные ткани, кость, стекловидное тело
Хондроитинсульфат	Глюкуроновая кислота- <i>N</i> -ацетилглюкозаминсульфат	Хрящ, роговица, артерии
Дерматансульфат	[Глюкуроновая или идуоновая кислота]- <i>N</i> -ацетилгалактозаминсульфат	Кожа, сердце, кровеносные сосуды
Кератансульфат	Галактоза- <i>N</i> -ацетилглюкозаминсульфат	Хрящ, роговица
Гепарансульфат	[Глюкуроновая или идуоновая кислота]- <i>N</i> -ацетилгалактозаминсульфат	Легкое, артерии, клеточные поверхности

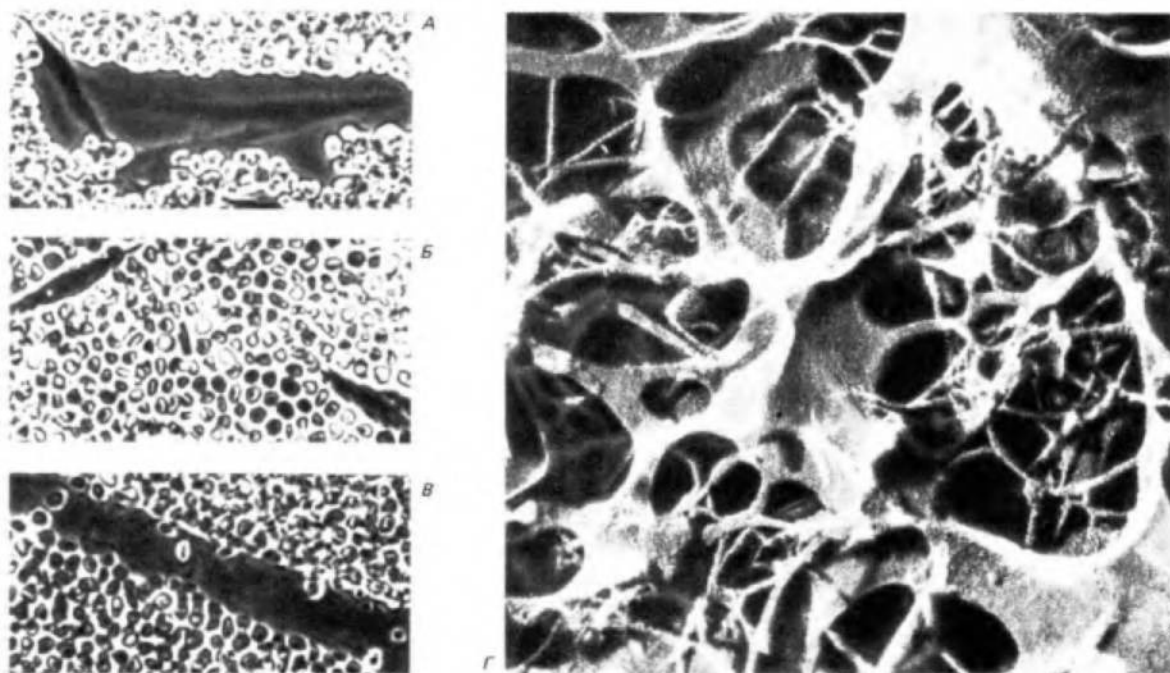


Рис. 15.38. Протеогликановая оболочка, окружающая подвижные клетки. *А.* Гиалуронидатная оболочка одевает миобласты цыпленка. Вокруг культивируемых миобластов на значительном расстоянии от клеточной границы отсутствуют какие-либо мелкие частицы (в данном случае фиксированные эритроциты). *Б.* После обработки миобластов гиалуронидазой (растворяющей гиалуроновую кислоту) эта внеклеточная оболочка исчезает. *В.* Оболочка исчезает также после того, как миобласты прекращают делиться, объединяются и начинают дифференцироваться. *Г.* Электронная микрофотография гиалуронидата в водном растворе, демонстрирующая разветвленную фибриллярную сеть. (*А–В* из Orkin et al., 1985; фотографии с любезного разрешения В. Тооле. *Г* из Hadler et al., 1982; фотография с любезного разрешения N. M. Hadler.)

типов; по-видимому, он необходим для установления и(или) поддержания структуры эпителиальных клеточных пластов. Если его синтез в эпителиальных клетках ингибировать (трансфекцией в них бессмысловой мРНК), то эти клетки утрачивают адгезивность к базальной пластинке и приобретают вид мезенхимных клеток. Если же ДНК синдекана, связанную с активным промотором, трансфицировать в фибробласты, то они конденсируются в плотные агрегаты. Как мы увидим в гл. 16, синдекан может играть очень важную роль в развитии: он синтезируется в мезенхимных клетках почки, зуба, зачатка конечности, когда происходит индукция конденсации этих клеток (Vainio et al., 1989; Thesleff et al., 1989; Bernfield, Sanderson, 1990).

Одни и те же гликозаминогликаны в разных тканях могут выполнять различные функции. Гепарансульфатные протеогликаны, например, являются универсальными компонентами базальной мембраны, но в нервной системе они стимулируют пролиферацию шванновских клеток. Аксоны ганглиев спинных корешков на некоторых белках клеточной поверхности содержат гепарансульфат; удаление этого протеогликана ингибирует пролиферацию

окружающих шванновских клеток (Ratner et al., 1985). В развивающейся почке конечности гепарансульфат (но не хондроитинсульфат) способствует индукции хрящевого фенотипа и росту хрящевых узелков (San Antonio et al., 1987).

Внеклеточные гликопротеины

Внеклеточный матрикс содержит и много других специализированных молекул, таких, как фибронектин, ламинин и энтактин. Эти крупные гликопротеины, по всей вероятности, обеспечивают организацию коллагена, протеогликана и клеток в упорядоченную структуру. **Фибронектин** — это очень крупный (молекулярная масса — 460 000 дальтон) гликопротеиновый димер, синтезируемый фибробластами, хондроцитами, эндотелиальными клетками, макрофагами и некоторыми эпителиальными клетками, в частности гепатоцитами и амниоцитами. Одна из функций фибронектина состоит в том, что он служит общей адгезивной молекулой, связывая клетки с различными субстратами, такими, как коллаген и протеоглики. Помимо этого, фибронектин организует внеклеточный матрикс при помощи



Рис. 15.39. Структурные и связывающие домены фибронектина. В виде прямоугольников представлены домены, устойчивые к действию протеаз. Домены для связывания фибробластов состоят из двух субъединиц – сайта RGD и сайта высокой аффинности; оба этих сайта необходимы для связывания клетки. Клетки нервного гребня птиц имеют другой сайт, обуславливающий их движение по фибронектиновому субстрату. Связь с коллагеном, гепарином¹ и другими молекулами внеклеточного матрикса обеспечивают другие области фибронектина. (По Dufour et al., 1988.)

нескольких особых сайтов связывания, взаимодействие которых с определенными молекулами обуславливает объединение клеток со своим внеклеточным матриксом (рис. 15.39).

Как уже упоминалось в предыдущих главах, фибронектин играет важную роль в миграции клеток, выстилая путь, по которому клетки мигрируют. У многих видов мезодермальные клетки в процессе гаструляции мигрируют по фибронектиновым поверхностям и при локальном удалении фибронектина движение их прекращается. Например, одна из групп мезодермальных клеток куриного зародыша – прекардиальные клетки, – перемещаясь с боковых сторон на среднюю линию, мигрирует по фибронектину. Если зародышам injectировать антитела к фибронектину или растворимые аминокислоты фибронектина, отвечающие за связывание клеток, то миграция прекардиальных клеток к средней линии прекращается, вследствие чего формируются два сердца. Результаты исследований с применением флуоресцирующих антител к фибронектину показали, что на пути миграции клеток между энтодермой и мезодермой существует градиент фибронектина. Если сделать пересадку этой области, перевернув ее при этом на 180°, то клетки сердца будут следовать градиенту к новым положениям, удаляясь от средней линии (Linask, Lash, 1988a, b). Следовательно, фибронектин играет важнейшую роль в миграции прекардиальных клеток к средней линии зародыша. Клетки других типов, например предшественники половых клеток у зародышей лягушки, также мигрируют по поверхности клеток, секретирующих фибронектин (Heasman et al., 1981).

Сайты молекулы фибронектина, обуславливающие ее связь с клетками, локализованы на расстоянии 3/4 длины от N-конца. Путем тестирования все более коротких фрагментов фибронектина, все еще сохра-

няющих способность связывать клетки, было показано (Pierschbacher, Ruoslahti, 1984), что прикрепление клеток к субстрату зависит от простого тетрапептида – аргинин-глицин-аспартат-серина (или по сокращению в однобуквенной системе RGDs). Замены в пределах первых трех аминокислот существенно снижают способность клеток к связыванию (Yamada, Kennedy, 1985), свидетельствуя о том, что трипептид RGD играет важную роль в узнавании клеткой фибронектина. Кроме того, если последовательности RGD injectировать в зародыш, то фибронектин-зависимая миграция прекращается, так как клетки связываются с синтетическим пептидом (Boucanc et al., 1984; Linask, Lash, 1988a).

Некоторые клетки, кроме сайта RGD, могут узнавать и другие последовательности молекулы фибронектина. Второй сайт связывания клетки, называемый «высокоаффинным сайтом», располагается на расстоянии около 300 аминокислот от N-концевой части молекулы (рис. 15.39). Оба сайта – RGD и высокоаффинный – необходимы для адгезии фибробластов к внеклеточному матриксу (Obara et al., 1988). Клетки нервного гребня птиц связываются и с RGD-сайтом, и с высокоаффинным сайтом, а кроме того, они способны связываться с еще одним участком молекулы фибронектина – сайтом CS1. Этот последний сайт может способствовать прикреплению клеток нервного гребня к матриксу, но RGD, высокоаффинный сайт и сайт CS1 в полном составе должны присутствовать для того, чтобы происходила миграция клеток (Dufour et al., 1988). Сайт CS1 имеется не во всех молекулах фибронектина, так как представляет собой экзон, удаляемый у некоторых типов фибронектина при сплайсинге. Таким образом, не все типы фибронектина способствуют миграции клеток нервного гребня.

Помимо участия в клеточной миграции, фибро-

¹ Гепарин представляет собой часть гепаринового протеогликана, секретируемого тучными клетками и базофилами. Гепарин и гепарансульфат – названия сходных гликозаминогликанов, обнаруженных во внеклеточном матриксе или на клеточной поверхности. Предполагается, что сайты связывания для гепарина те же, что и для гепарансульфата (Bernfield, Sanderson, 1990).

нектин, очевидно, играет определенную роль и в других процессах развития, функционируя в качестве регулятора. На поверхности мезенхимных клеток и миобластов содержится значительное количество фибронектина, но это количество уменьшается по мере дифференцировки клеток соответственно в хондроциты и мышечные трубочки (Lewis et al., 1978; Chen, 1977; Furcht et al., 1978). Удаление фибронектина с поверхности миобластов оказывается необходимым для слияния этих клеток в мышечные трубочки (Podleski et al., 1979).

Ламинин является основным компонентом базальных пластинок. Он образован тремя пептидными цепями и, как фибронектин, может связываться с коллагеном, гликозаминогликанами и клетками (рис. 15.40). С ламинином связывается коллаген типа IV (специфичный для базальной пластинки), и связывающая клетки область ламинина узнает главным образом эпителиальные клетки и нейроны. Адгезия эпителиальных клеток к ламинину (на котором они сидят и который утилизируют) значительно выше, чем сродство мезенхимных клеток к фибронектину (который они должны связывать и выделять, если им предстоит миграция). Известно, что, как и фибронектин, ламинин играет роль в организации внеклеточного матрикса, способствует адгезии и росту клеток, изменяет форму клеток и позволяет клеткам мигрировать (Nakamori, 1984).

Однако не все крупные внеклеточные гликопротеины служат субстратами для адгезии клеток. В некоторых типах внеклеточного матрикса по ходу развития с определенной закономерностью появляется **тенасцин** (называемый также цитотактином), моле-



Рис. 15.41. Ингибирование клеточной адгезии тенасцином. Фибронектин и тенасцин наносили на культуральную чашку. Затем на субстрат помещали фибробласты, которые, прикрепившись, начинали мигрировать. Результат эксперимента демонстрирует преимущество фибронектинового субстрата; поверхность, покрытая тенасцином, свободна от фибробластов; они к ней не прикрепляются и не мигрируют по ней. (Фотография с любезного разрешения R. Chiquet.)

кулы которого примерно до половины своей длины представлены фибронектином. Различные клетки реагируют на него по-разному: одни клетки к нему прилипают, другие же, напротив, округляясь, отделяются от него (рис. 15.41; Spring et al., 1989). Фибронектин и тенасцин в разных относительных количествах могут создавать субстраты с различной степенью адгезивности. Кроме того, тенасцин стимулирует у располагающихся на нем клеток синтез и секрецию протеаз (Werb et al., 1990). Оба этих признака играют важную роль в создании путей миграции клеток и в перестройке внеклеточных матриксов во время эмбрионального развития (Tan et al., 1987; Bronner-Fraser, 1988; Wehrle, Chiquet, 1990).

Интегрины – рецепторы клеток к фибронектину и ламинину

Способность клеток связываться с перечисленными выше гликопротеинами зависит от экспрессии на поверхности клеток рецепторов клеточной мембраны для «сайта связывания клетки» этих крупных молекул. Основные рецепторы фибронектина были выделены с помощью моноклональных антител, блокирующих прикрепление клеток к фибронектину, и путем выделения тех мембранных белков, которые связываются с последовательностью RGD (Leptin, 1986), а также посредством выделения белков, связываемых антителами, ингибирующими адгезию «клетка – фибронектин» (Knudsen et al., 1985; Chen et al., 1985).

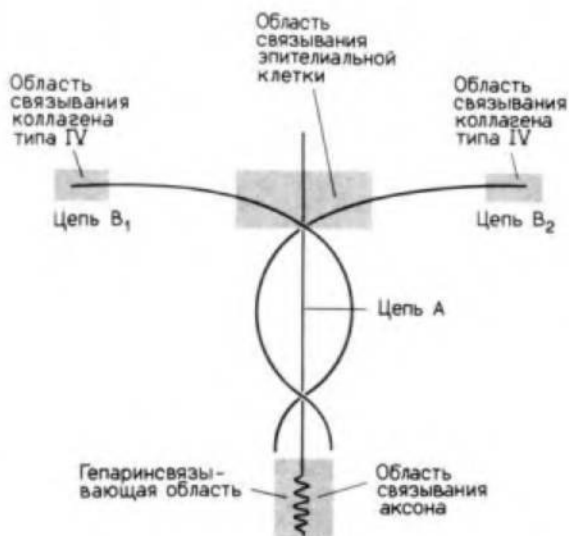


Рис. 15.40. Строение ламинина и предполагаемые области связывания.

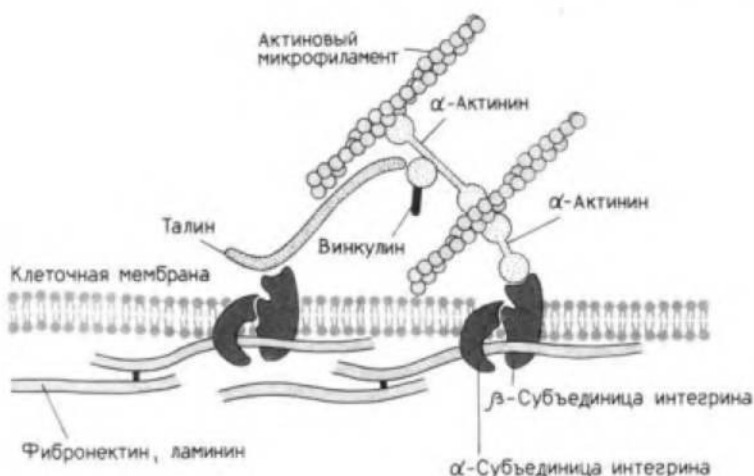


Рис. 15.42. Предполагаемая схема связывания цитоскелета с внеклеточным матриксом посредством молекулы интегрина. (По Burridge et al., 1990.)

Было обнаружено, что рецепторный комплекс к фибронектину не только связывает фибронектин на наружной поверхности клетки, но одновременно и связывает белки цитоскелета *изнутри*. Таким образом, фибронектиновый рецепторный комплекс пронизывает клеточную мембрану, соединяя два типа матрикса. На внутренней поверхности клеточной мембраны он служит местом заякоривания актиновых микрофиламентов, обуславливающих движение клетки, а на внешней ее поверхности он связывается с фибронектином внеклеточного матрикса (рис. 15.42). Это семейство рецепторных белков было названо **интегринами** (Horwitz et al., 1986; Tamkun et al., 1986), поскольку они интегрируют внутриклеточные и внеклеточные конструкции, позволяя им работать вместе. Оказалось, что интегриновые белки пронизывают клеточные мембраны клеток

многих типов, связываясь с RGD-последовательностями нескольких адгезионных белков внеклеточного матрикса, в том числе витронектина (обнаруженного в базальной пластинке глаза), фибронектина и ламинина (Ruoslahti; Pierschbacher, 1987). Не исключено, что такое двойное связывание дает клетке возможность двигаться посредством сокращения актиновых микрофиламентов относительно неподвижного внеклеточного матрикса (рис. 15.43).

Интегрины содержат одну α-субъединицу и одну β-субъединицу; специфичность связывания интегрин зависит от комбинации субъединиц и от условий клеточного окружения (Hemler et al., 1987; Hemler, 1990). Как показано в табл. 15.4, различные бинарные сочетания α- и β-субъединиц позволяют интегринам связываться с определенными внеклеточными молекулами. Следует заметить, однако, что интегрин

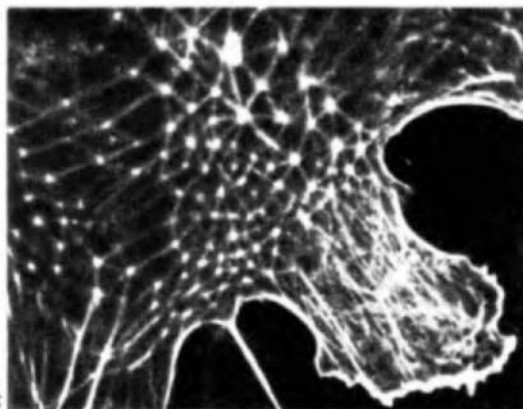
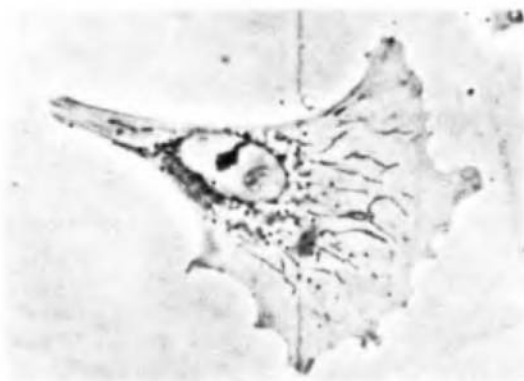


Рис. 15.43. Миграция клеток. А. Фазоконтрастная микрофотография фибробласта в движении. Тонкий гофрированный конец (ламеллоподия) прокладывает путь, прикрепляясь к матриксу и подтягивая к нему остальную часть клетки. Б. Актиновые микрофиламенты клетки, выявленные с помощью непрямого иммунофлуоресценции. Эти микрофиламенты выходят из упорядоченной цитоскелетной решетки и простираются в гофрированную мембрану ламеллоподии. (А — любезного разрешения N. Wessells; Б — из Lazarides, 1976; фотография с любезного разрешения E. Lazarides.)

Таблица 15.4. Комбинации субъединиц интегринов и лигандов¹

Основные β -субъединицы ² и интегрины	α -Субъединицы										
	$\alpha 1$	$\alpha 2$	$\alpha 3$	$\alpha 4$	$\alpha 5$	$\alpha 6$	αV	αIIb	$\alpha 2L$	$\alpha 2M$	αX
$\beta 1$ (ИНТЕГРИНЫ VLA)											
Коллаген											
Ламинин											
Фибронектин											
Витронектин											
$\beta 2$ (ЛЕЙКАНОВЫЕ ИНТЕГРИНЫ)											
I-MCA											
Фибронектин											
Фактор свертывания X											
C3b											
$\beta 3$ (ИНТЕГРИНЫ ЦИТОАДГЕЗИИ)											
Витронектин											
Фибриноген											
Фактор фон Виллибранда											
Костный сialобелок											
Фибронектин											
$\beta 4$ (ЭПИТЕЛИАЛЬНЫЕ ИНТЕГРИНЫ)											
Компонент десмосом											
Базальная пластинка разных типов эпителия и шванновских клеток											

¹ Пустые клетки в таблице означают комбинации субъединиц, которые не наблюдались.² В таблице приведены только 4 основные β -субъединицы. Теперь известно, что существует по крайней мере 8 β -субъединиц.

часто связывает более, чем одну молекулу, и его специфичность определяется клеточным окружением. Например, интегрин $\alpha 2\beta 1$ способен связывать и коллаген, и ламинин. На одних клетках он действительно связывается обеими молекулами, но на других тот же самый интегрин связывается либо с ламинином, либо с коллагеном. В некоторых случаях предпочтение того или иного субстрата объясняется ионными условиями. Часто в одном и том же органе можно встретить различные интегрины. Так, например, клетки почечных канальцев происходят из агрегата мезенхимных клеток. Однако по мере развития клетки, дающие начало эпителию боуменовой капсулы, экспрессируют интегрин $\alpha 3\beta 1$, тогда как все клетки канальца экспрессируют интегрин $\alpha 6\beta 1$. Связывание А-цепи ламинина интегрином $\alpha 6\beta 1$, по-видимому, имеет существенное значение для формирования поляризованного эпителия почечных канальцев (Korhonen et al., 1990; Sorokin et al., 1990).

Значение интегринов для морфогенеза очень ярко иллюстрирует пример, относящийся к развитию дрозофилы. Как и интегрины позвоночных, интегрины дрозофилы состоят из двух субъединиц (α и β), пронизывающих клеточную мембрану. У двух известных интегринов дрозофилы β -субъединицы иден-

тичны, а α -субъединицы различаются. Оба этих интегрин действуют на тканевую и клеточную адгезию во время развития совместно. При развитии крыла приводятся в контакт два эпителиальных слоя. При этом интегрин PS1 обнаруживается на базальной поверхности презумптивного *дорсального* эпителия крыла, тогда как интегрин PS2 находится на верхней поверхности презумптивного *вентрального* эпителия крыла. В процессе метаморфоза и тот и другой эпителий встречаются и слипаются, формируя двухслойную пластинку крыла. Мутации в интегрингах приводят к тому, что в некоторых участках крыло расслаивается, о чем свидетельствуют пузырьки между двумя пластинками (Wilcox et al., 1989; Brower, Jaffe, 1989). Поскольку интегрины необходимы для прикрепления мышц к эпидермису и к стенке кишки, некоторые мутации, приводящие к синтезу аномальных интегринов, летальны. В случае летальной мутации *lethal (1) myospheroid* наблюдается недостаток генов, кодирующих β -субъединицу интегринов дрозофилы. Без этой субъединицы интегрины не образуются. Соматические мышцы, сокращаясь, становятся шарообразными и не прикрепляются к стенке тела или кишке (Leptin et al., 1989).

Если для связывания молекул внеклеточного мат-

рикса необходимы обе субъединицы интегрин, то в трансмембранной связи с внутренним цитоскелетом решающее значение имеет цитоплазматическая область β -субъединицы. Клетки с мутантной субъединицей $\beta 1$, лишенной именно этой области, не могут связываться с цитоскелетом, несмотря на то, что их внеклеточные домены могут связывать фибронектин (Solowska et al., 1989; Hayashi et al., 1990). Связывание цитоплазматического домена с талином и фибулином также показано биохимически (Horwitz et al., 1986; Argraves et al., 1989). Как видно из рис. 15.42, с каждой стороны молекулы интегрин находится ансамбль белков. С наружной стороны – это сложный набор белков внеклеточного матрикса. С внутренней – это компоненты цитоскелета, особенно те, что связаны с движением клетки. Полагают, что связывание актиновых филаментов осуществляется посредством талина или α -актинина (Burrige, 1990).

Продвижение клетки во время миграции с помощью актиновых микрофиламентов требует прикрепления их к субстрату. Это прикрепление обеспечивает интегрин. Однако в отличие от эпителиальных клеток, плотно прикрепляющихся к базальной мембране, прикрепление мигрирующих клеток к базальной пластинке при их миграции должно постоянно прерываться и возобновляться. Было показано (Beckerle et al., 1987), что в местах связывания интегрин с субстратом специфически локализуется кальций-зависимая протеаза, расщепляющая талин. Возможно, что эта протеаза разрушает мостики между рецептором фибронектина и цитоскелетом. При разрыве контакта между интегрином и фибронектином синтетическими пептидами из участков, где происходит адгезия, выделяются α -актинин и винкулин.

Интегрины – не единственные молекулы, способные связываться с ламинином и фибронектином. Если рецептор интегрин связывается с RGD-последовательностью в А-цепи ламинина, то два других ламининовых белка связываются с различными последовательностями (YIGSR) в В1-цепи (Graf et al., 1987; Yow et al., 1988). Как уже упоминалось, углеводные группы молекулы ламинина узнаются и другими белками. Эти рецепторы обладают различным сродством к ламинину, что имеет большое значение для их функционирования (Horwitz et al., 1985). Так, например, интегрин $\alpha\beta 1$ фибробластов имеет относительно низкое сродство к ламинину ($K_d = 10^{-6}$ М), тогда как сродство к ламинину рецептора ламинина эпителиальных клеток значительно выше ($K_d = 2 \cdot 10^{-9}$ М). Соответствующий рецептор может иметь существенное значение при использовании клеткой ламинина либо в составе базальной мембраны (при этом сродство рецептора должно быть высоким), либо в качестве субстрата для мигра-

ции (при этом используются рецепторы с низким сродством).

Дифференциальная адгезия как результат действия множественных адгезионных систем

Каждую из перечисленных выше адгезионных систем мы обсуждали как отдельную самостоятельную единицу, однако, судя по всему, морфогенетические процессы взаимодействия между клетками осуществляются в результате совместного действия разных молекул клеточной адгезии. Адгезию аксонов к культивируемым мышечным клеткам можно ингибировать только при внесении целого комплекса антител, направленных против N-МКА, N-кадгерина и интегрин (Chuong et al., 1987). Было также обнаружено (Bixby et al., 1987, 1988), что миграция нейронов по клеткам мозжечка регулируется специфическими комбинациями Ng-МКА, N-кадгерина и интегрин, действие которых проявляется на разных уровнях мозжечка. Первичное прикрепление бластоцисты мыши к стенке матки, по-видимому, также опосредовано несколькими адгезионными системами. Во-первых, клетки трофобласта несут рецепторы коллагена и гепарансульфатных протеогликанов эндометрия матки, и нарушение какого-либо одного из этих типов связывания может затруднить имплантацию (Carson et al., 1988; Farach et al., 1987). Во-вторых, было показано (Dutt et al., 1987), что трофобласт может прилипнуть к клеткам матки благодаря галактозилтрансферазам клеточной поверхности. Субстрат для этой сахаридной МКА – лактозаминогликан – появляется на клетках матки, индуцированных эстрогеном. В-третьих, Кадокава и др. (Kadokawa et al., 1989) обнаружили, что в области имплантации Р-и Е-кадгерин присутствуют и на трофобласте, и на ткани матки.

Значение внеклеточного матрикса для дифференцировки

Для многих клеток процессы морфогенеза коррелируют с экспрессией генов. Возможно, это происходит при участии внеклеточного матрикса. Если клетки Сертоли у крыс, являющиеся основным структурным элементом семенников, культивировать в пластиковых чашках Петри, то они дедифференцируются, образуя плоский монослой клеток. Однако если эти клетки культивируют поверх базальной мембраны (содержащей ламинин, коллаген типа IV, гепарансульфат, нидоген и энтактин), то они образуют монослой цилиндрических клеток, идентичных нормальным клеткам Сертоли семенников (рис. 15.44). Такие клетки Сертоли содержат хорошо сформированный цитоскелет и базально расположенные контакты, что характерно для клеток *in vivo*; кроме того, уровень

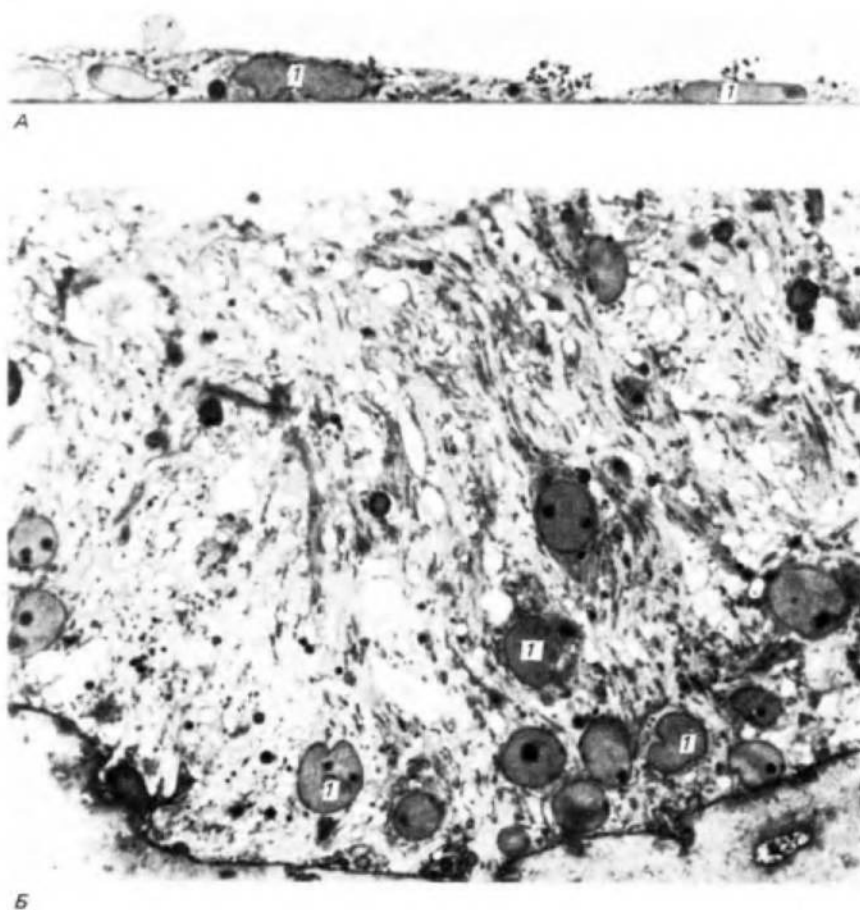


Рис. 15.44. Базальная пластинка и клеточная дифференцировка. Микрофотография, полученная с помощью светового микроскопа, клеток Сертоли мыши (1), растущих в течение двух недель (А) на пластиковых чашках, и (Б) на таких же чашках, покрытых веществом базальной пластинки. Фотографии сделаны при одном и том же увеличении – 1200. (Из Hadley et al., 1985; фотографии с любезного разрешения М. Дым.)

синтеза андроген-связывающего белка и трансферрина в клетках, растущих на базальной мембране, значительно выше (Hadley et al., 1985).

Такой тип дифференцировки, индуцированный матриксом, обнаружен и в некоторых других случаях и может быть вызван фиксацией рецепторов клеточной поверхности на одной стороне клетки. Как будет показано в следующем разделе, изменение положения этих молекул клеточной мембраны может повлечь за собой глубокие изменения внутри клетки.

Контактные модификации и морфогенез

Наличие внеклеточного матрикса может приводить либо к разъединению клеток, либо к их объединению. Если связь клеток осуществляется посредством внеклеточного матрикса, то базальная пластинка обычно формируется только на одной стороне. Такое расположение позволяет прилежащим клеткам контактировать и взаимодействовать посредством своих боковых поверхностей. Существуют три основных типа специализированных клеточных контактов:

плотные контакты, десмосомы и щелевые контакты.

Плотные контакты обеспечивают наиболее тесные клеточные взаимодействия (рис. 15.45, А); они используются для разделения внеклеточного пространства на отдельные отсеки, или компартменты. Эту способность формировать компартменты мы уже отмечали ранее, когда речь шла о плотных контактах, образуемых наружными клетками blastocysts млекопитающих.

Плотный контакт (иногда он называется зоной замыкания) может разделить плазматическую мембрану на функциональные области. В эпителии почки и кишки, например, имеет место асимметричное распределение интегральных мембранных белков. Пищеварительные гидролазы и фосфатазы локализованы на апикальной поверхности просвета, тогда как кальциевые и натриевые насосы локализуются на базальной клеточной мембране. Если разрушить плотные контакты понижением концентрации ионов кальция при культивировании этих клеток, то апикальные и базальные белки мембран получат возможность смешиваться (Ziomek et al., 1980; Palade, 1985).

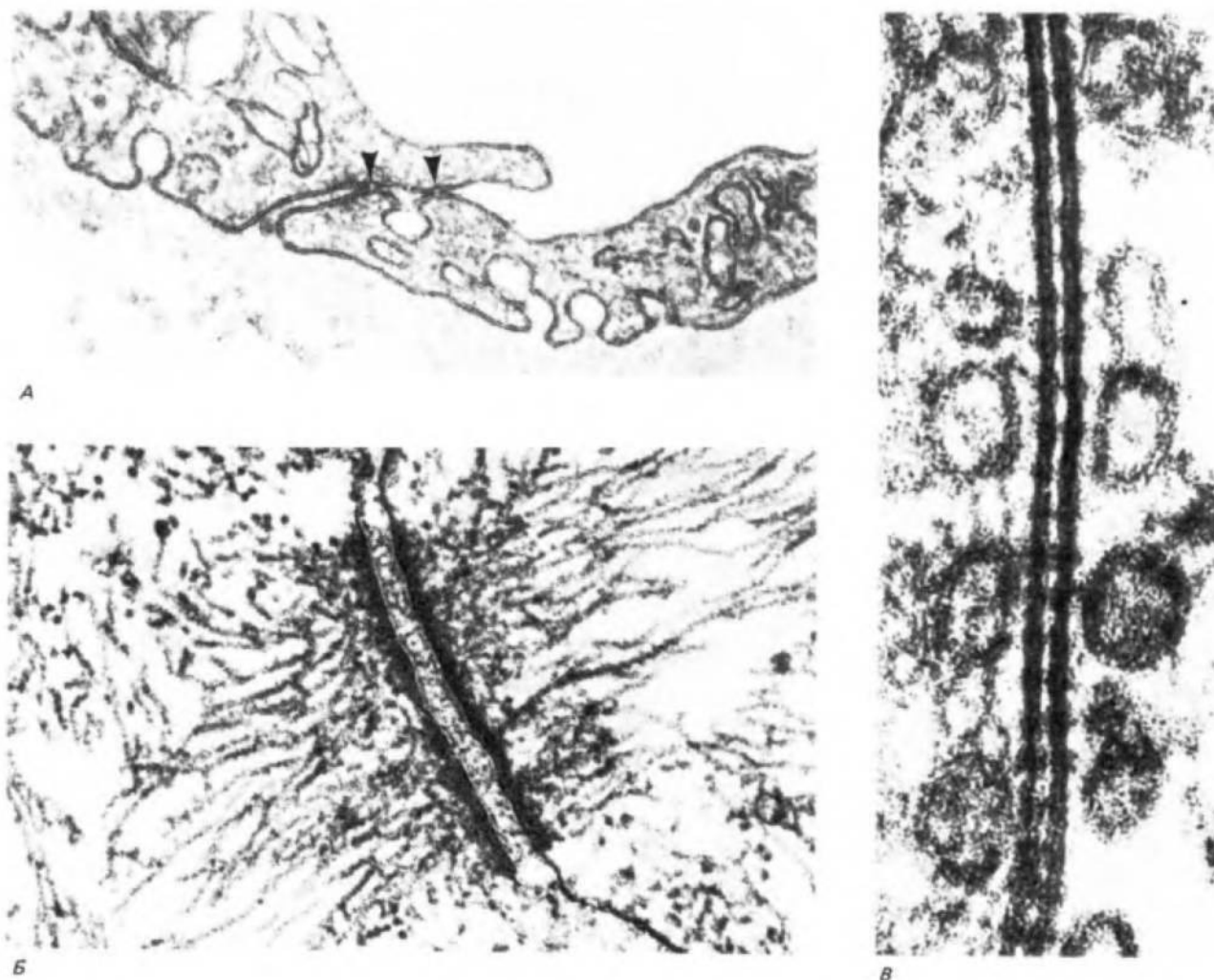


Рис. 15.45. Специализация мембраны в месте контакта двух клеток. *А*. Плотные контакты. Две соседние эндотелиальные клетки сближаются и их мембраны сливаются (стрелки), образуя плотное соединение. *Б*. Десмосомы. Электронная микрофотография десмосом двух соседних клеток из эпидермиса тритона. В обеих клетках можно видеть белковое утолщение, межклеточное пространство заполнено гликопротеиновым матриксом. *В*. Щелевые контакты. Электронная микрофотография области щелевого контакта между двумя противоположающимися клетками. Структуры, напоминающие бусины, образованы рядами контактных белков, формирующих туннели между клетками. (*А* – с любезного разрешения J. Rash; *Б* – из Kelly, 1966; *В* – из Peracchia, Dulhunty, 1976.)

Десмосомы часто встречаются в тех случаях, когда клетки соединяются для формирования непроницаемой ткани. В цитоплазме прилежащих клеток обнаруживаются локальные утолщения, образованные фибриллярным белком. Ширина промежутка между клетками составляет 200–350 нм и заполнено гликопротеиновым цементом (рис. 15.45, *Б*). Клетки, соединенные посредством десмосом, отделить друг от друга очень трудно.

Щелевые контакты можно обнаружить между прилежащими клетками многих типов, находящимися на расстоянии от 20 до 40 нм. Это пространство

пересекают тончайшие отростки (рис. 15.45, *В*), которые служат не для разделения компартментов, а для коммуникации клеток друг с другом. Клетки, связанные коммуникационными каналами, называются «сопряженными»; они могут обмениваться друг с другом небольшими молекулами и ионами. У большинства зародышей по крайней мере ранние бластомеры связаны щелевыми контактами, в результате чего небольшие растворимые молекулы и ионы свободно проходят между ними. И снова мы можем обратиться к уже обсуждавшимся примерам: так, клетки внутренней клеточной массы зародышей мле-

копитающих сопряжены посредством щелевых контактов, а в ходе развития некоторых моллюсков щелевые контакты формируются в точно определенное время, когда возникает необходимость передачи информации от одного бластомера к другому.

О значении щелевых контактов в развитии можно судить по результатам сравнительно недавно проведенных опытов на зародышах амфибий и млекопитающих. Когда в один из бластомеров 8-клеточной бластулы *Xenopus* путем микроинъекции вводили антитела к белкам щелевых контактов, то потомки этой клетки, обычно связанные посредством щелевых контактов, не могли больше обмениваться ионами и малыми молекулами. Головастики, развившиеся из обработанных таким способом бластул, оказались дефектными, и эти дефекты развития были специфически связаны с судьбой инъецированной клетки (рис. 15.46). Потомство такой клетки не погибло, но оказывалось не способно следовать по нормальному пути развития (Warner et al., 1984). В некомпактизованном и в компактизованном зародыше мыши все 8 бластомеров связаны друг с другом посредством щелевых контактов. Если контакты не-

компактизованных зародышей блокировать соответствующими антителами, то клетки продолжат деления, но компактизации не произойдет (Lo, Gilula, 1979; Lee et al., 1987). Таким образом, щелевые контакты, по-видимому, играют существенную роль в сообщении клеткам важной для развития информации.

В 1782 году французский эссеист Дени Дидро описал проблему морфогенеза, возникшую в горячем бреду у известного физика, которому казалось, что тело образовано мириадами «крошечных чувствительных телец», но который никак не мог понять, каким образом этот агрегат может стать организмом. Результаты современных исследований показали, что упорядоченность обусловлена молекулами на поверхности самих клеток. В следующих главах мы более подробно рассмотрим некоторые из этих морфогенетических взаимодействий.

ЛИТЕРАТУРА

- Abercrombie M., Ambrose E. J. (1958). Interference microscope studies of cell contacts in tissue culture, *Exp. Cell Res.*, **15**, 332–345.
- Armstrong P. B. (1985). The control of cell motility during embryogenesis, *Cancer Metas. Rev.*, **4**, 59–80.
- Balsamo J., Lilien J. (1974). Functional identification of three components which mediate tissue-type specific embryonic cell adhesion, *Nature*, **251**, 522–524.
- Balsamo J., Lilien J. (1975). The binding of tissue-specific adhesive molecules to the cell surface. A Molecular basis for specificity, *Biochemistry*, **14**, 167–171.
- Balsamo J., Lilien J. (1980). Properties of a β -N-acetylgalactosaminyltransferase and its mobilization from an endogenous pool to cell surface of embryonic chick neural retina cells, *Biochemistry*, **19**, 2479–2484.
- Balsamo J., Pratt R. S., Emmerling M. R., Grunwald G. B., Lilien J. (1986a). Identification of the chick neural retina cell surface N-acetylgalactosaminyltransferase using monoclonal antibodies, *J. Cell Biochem.*, **32**, 125–141.
- Balsamo J., Pratt R. S., Lilien J. (1986b). Chick neural retina N-acetylgalactosaminyltransferase/acceptor complex: Catalysis involves transfer of N-acetylgalactosamine phosphate to endogenous acceptors, *Biochemistry*, **25**, 5402–5407.
- Bastiani M. J., Doe C. Q., Helfand S. L., Goodman C. S. (1985). Neuronal specificity and growth cone guidance in the grasshopper and *Drosophila* embryos, *Trends Neurosci.*, **8**, 257–266.
- Bastiani M. J., Harrelson A. L., Snow P. M., Goodman C. S. (1987). Expression of fasciclin I and II glycoproteins on subsets of axon pathways during neuronal development in the grasshopper, *Cell*, **48**, 745–755.
- Bayna E. M., Runyan R. B., Scully N. F., Lopez L. C., Reichner J., Shur B. D. (1986). Cell surface receptors during mammalian fertilization and development, *Mol. Cell. Biochem.*, **72**, 141–151.
- Beckerle M. C., Burrdige K., DeMartino G. N., Croall D. E. (1987). Colocalization of calcium-dependent protease II and one of its substrates and sites of adhesion, *Cell*, **51**, 569–577.
- Bendori R., Salomon D., Geiger B. (1987). Contact-dependent regulation of vinculin expression in cultured fibroblasts: A study with vinculin-specific cDNA probes, *EMBO J.*, **6**, 2897–2905.
- Berman P. and 8 others. (1987). Sequence analysis, cellular

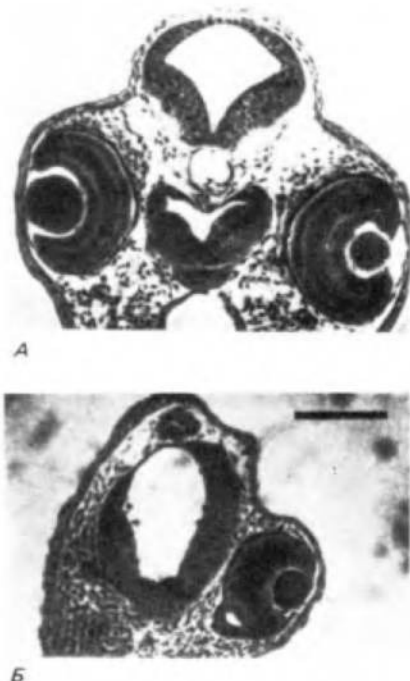


Рис. 15.46. Влияние щелевых контактов на развитие. Срез через головастика *Xenopus*, у которого в один из бластомеров на 8-клеточной стадии инъецировали (А) контрольные антитела или (Б) антитела против белка щелевого контакта. Сторона, образованная потомками этого бластомера, не имеет глаза и характеризуется аномальным строением мозга. (Из Warner et al., 1984; фотографии с любезного разрешения А. Е. Warner.)

- localization, and expression of a neuroretina adhesion cell survival molecule, *Cell*, **51**, 135–142.
- Bixby J., Pratt R., Lilien J., Reichardt L. F. (1987). Neurite outgrowth on muscle cell surfaces involves extracellular matrix receptors as well as Ca^{2+} -dependent and -independent cell adhesion molecules, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 2555–2559.
- Borgens R. B. (1982). What is the role of naturally produced electric current in vertebrate regeneration and healing? *Int. Rev. Cytol.*, **76**, 245–300.
- Boucaut J. C. (1974). Etude autoradiographique de la distribution de cellules embryonnaires isolées, transplantées dans le blastocèle chez *Pleurodeles waltii* Michah (Amphibien, Urodele), *Ann. Embryol. Morphol.*, **7**, 7–50.
- Boucaut J. C., Durribère T., Poole T. J., Aoyama H., Yamada K. M., Thiery J.-P. (1984). Biologically active synthetic peptides as probes of embryonic development: A competitive peptide inhibitor of fibronectin function inhibits gastrulation in amphibian embryos and neural crest cell migration in avian embryos, *J. Cell Biol.*, **99**, 1822–1830.
- Boyse E. A., Old L. J. (1969). Some aspects of normal and abnormal cell surface genetics, *Annu. Rev. Genet.*, **3**, 269–289.
- Brackenbury R., Thiery J.-P., Rutishauser U., Edelman G. M. (1977). Adhesion among neural cells of the chick embryo. I. Immunological assay for molecules involved in cell-cell binding, *J. Biol. Chem.*, **252**, 6835–6840.
- Carter S. B. (1967). Haptotaxis and the mechanism of cell motility, *Nature*, **213**, 256–260.
- Champion S., Imhof B. A., Savagner P., Thiery J.-P. (1986). The embryonic thymus produces chemotactic peptides involved in the homing of hemopoietic precursors, *Cell*, **44**, 781–790.
- Chen L. B. (1977). Alteration in cell surface LETS protein during myogenesis, *Cell*, **10**, 393–400.
- Chen W.-T., Hasegawa E., Hasegawa T., Weinstock C., Yamada K. M. (1985). Development of cell surface linkage complexes in cultured fibroblasts, *J. Cell Biol.*, **100**, 1103–1114.
- Cheney C. M., Lash J. W. (1981). Diversification within embryonic chick somites: Differential response to notochord, *Dev. Biol.*, **81**, 288–298.
- Chuong C.-M., Crossin K. L., Edelman G. M. (1987). Sequential expression and differential function of multiple adhesion molecules during the formation of cerebellar cortical layers, *J. Cell Biol.*, **104**, 331–342.
- Chuong C.-M., Edelman G. M. (1985a). Expression of cell adhesion molecules in embryonic induction: I. Morphogenesis of nestling feathers, *J. Cell Biol.*, **101**, 1009–1026.
- Chuong C.-M., Edelman G. M. (1985b). Expression of cell adhesion molecule in embryonic induction: II. Morphogenesis of adult feathers, *J. Cell Biol.*, **101**, 1027–1043.
- Cooper M. S., Schliwa M. (1985). Electrical and ionic controls of tissue cell locomotion in DC electric fields, *J. Neurosci. Res.*, **13**, 223–244.
- Crawford K., Stocum D. L. (in press). Retinoic acid coordinately proximalizes regenerate pattern and blastema differential affinity in axolotl limbs, *Dev. Biol.*
- Crossin K. L., Chuong C.-M., Edelman G. M. (1985). Expression sequences of cell adhesion molecules, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 6942–6946.
- Cummings R. D., Cebula T. A., Roth S. (1979). Characterization of a galactosyltransferase in plasma membrane-enriched fractions from BALB/c 3T12 cells, *J. Biol. Chem.*, **254**, 1233–1240.
- Cunningham B. A., Hoffman S., Rutishauser U., Hemperly J. J., Edelman G. M. (1982). Molecular topography of the neural cell adhesion molecule N-CAM: Surface orientation and location of sialic acid-rich and binding regions, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 3116–3120.
- Curtis A. S. G. (1969). The measurement of cell adhesiveness by an absolute method, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **22**, 305–325.
- Damsky C. H., Knudsen K. A., Bradley D., Buck C., Horwitz A. F. (1985). Distribution of the cell substratum attachment (CSAT) antigen on myogenic and fibroblastic cells culture, *J. Cell Biol.*, **100**, 1528–1539.
- Daniloff J. K., Chuong C.-M., Levi G., Edelman G. M. (1986). Differential distribution of cell adhesion molecules during histogenesis of the chick nervous system, *J. Neurosci.*, **6**, 739–758.
- DePetris S. (1974). Inhibition and reversal of capping by cytochalasin B, vinblastine, and colchicine, *Nature*, **250**, 54–56.
- Diderot D. (1982). D'Alembert's Dream. In: J. Barzun and R. H. Bowen (eds.), *Rameau's Nephew and Other Works* (1956). Doubleday, Garden City, NY, p. 114.
- Dufour S., Duband J.-L., Thiery J.-P. (1986). Role of a major cell-substratum adhesion system in cell behavior and morphogenesis, *Biol. cell*, **58**, 1–14.
- Dutt A., Tang T.-P., Carson D. D. (1987). Lactosaminoglycans are involved in uterine epithelial cell adhesion in vitro, *Dev. Biol.*, **119**, 27–37.
- Edelman G. M. (1976). Surface modulation in cell recognition and growth, *Science*, **192**, 218–226.
- Edelman G. M. (1985). Expression of cell adhesion molecules during embryogenesis and regeneration, *Exp. Cell Res.*, **161**, 1–16.
- Edelman G. M. (1986a). Cell adhesion molecules in the regulation of animal form and pattern, *Annu. Rev. Cell Biol.*, **2**, 81–116.
- Edelman G. M. (1986b). Cell adhesion molecules in neural histogenesis, *Annu. Rev. Physiol.*, **48**, 417–430.
- Edelman G. M., Gallin W. J., Delouée A., Cunningham B. A., Thiery J.-P. (1983). Early epochal maps of two different cell adhesion molecules, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 4384–4388.
- Edelman G. M., Thiery J.-P. (1985). *The Cell in Contact: Adhesions and Junctions as Morphogenic Determinants*, Wiley, New York.
- Erikson C. A., Tosney K. W., Weston J. A. (1980). Analysis of migratory behavior of neural crest and fibroblastic tissues, *Dev. Biol.*, **77**, 142–156.
- Fink R., McClay D. R. (1985). Three cell recognition changes accompany the ingression of sea urchin primary mesenchyme cells, *Dev. Biol.*, **107**, 66–74.
- Frye L. D., Edidin M. J. (1970). The rapid intermixing of cell surface antigens after the formation of mouse-human heterokaryons, *J. Cell Sci.*, **7**, 319–335.
- Furcht L. T., Mosher D. F., Wendelschafer-Crabb G. (1978). Immunocytochemical localization of fibronectin (LETS protein) on the surface of L6 myoblasts: Light and electron microscope studies, *Cell*, **13**, 263–271.
- Giudice G. (1962). Restitution of whole larvae from disaggregated cells of sea urchin embryos, *Dev. Biol.*, **5**, 402–411.
- Gordon M. K., Gerecke D. R., Olse B. R. (1987). Type XII collagen: Distinct extracellular matrix component discovered by DNA cloning, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 6040–6044.
- Grunwald G. B., Kornuth S. E., Towfighi J., Sassani J., Simmonds M. A., Housman C. M., Papadopoulos N. (1987). Autoimmune basis for visual paraneoplastic syndrome in patients with small cell lung carcinoma, *Cancer*, **60**, 780–786.
- Grunwald G. B., Simmonds M. A., Klein R., Kornuth S. E. (1985). Autoimmune basis for visual paraneoplastic syndrome in patients with small-cell lung carcinoma, *Lancet* 1985, 658–661.
- Hadler N. M., Dourmash R. R., Nermut M. V., Williams L. D. (1982). Ultrastructure of a hyaluronic acid matrix, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 307–309.
- Hadley M. A., Byers S. W., Suárez-Quian C. A., Kleinman H. K., Dym M. (1985). Extracellular matrix regulates Sertoli cell differentiation, testicular card formation, and germ cell development in vitro, *J. Cell Biol.*, **101**, 1511–1522.
- Hakamori S., Fukuda M., Sekiguchi K., Carter W. G. (1984). Fibronectin, laminin, and other extracellular glycoproteins.

- In: K. A. Picz and A. H. Reddi (eds.), *Extracellular Matrix Biochemistry*, Elsevier, New York, pp. 229–275.
- Hall A. K., Rutishauser U. (1987). Visualization of neural cell adhesion molecule by electron microscopy, *J. Cell Biol.*, **104**, 1579–1586.
- Harris A. K. (1973). Behavior of cultured cells on substrate of various adhesiveness, *Exp. Cell Res.*, **77**, 285–297.
- Harris A. K. (1980). Silicone rubber substrate: A new wrinkle in the study of cell locomotion, *Science*, **208**, 176–179.
- Harris A. K. (1984). In: W. Jager, J. D. Murray (eds.), *Modeling of Patterns in Time and Space*, Springer-Verlag, Berlin, p. 104.
- Harris H. (1954). Role of chemotaxis in inflammation, *Physiol. Rev.*, **34**, 529–562.
- Hatta K., Takeichi M. (1986). Expression of N-cadherin adhesion molecules associated with early morphogenetic events in chick development, *Nature*, **320**, 447–449.
- Hatta K., Takagi S., Fujisawa H., Takeichi M. (1987). Spatial and temporal expression pattern of N-cadherin cell adhesion molecules correlated with morphogenetic processes of chicken embryos, *Dev. Biol.*, **120**, 215–227.
- Hausman R. F., Moscona A. A. (1976). Purification and characterization of the retina-specific cell-aggregation factor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **72**, 916–920.
- Heasman J., Hines R. D., Swan A. P., Thomas V., Wylie C. C. (1981). Primordial germ cells of *Xenopus* embryos: The role of fibronectin in their adhesion during migration, *Cell*, **27**, 437–447.
- Hinkle L., McCaig C. D., Robinson K. R. (1981). The direction of growth of differentiating neurons and myoblasts from frog embryos in an applied electric field, *J. Physiol.*, **314**, 121–135.
- Hirokawa N., Cheney R. E., Willard M. (1983). Localization of a protein of the fodrin-spectrin-TW260/240 family on the mouse intestinal brush border, *Cell*, **32**, 953–965.
- Hoffman S. B., Edelman G. M. (1983). Kinetics of homophilic binding by E and A forms of the neural cell adhesion molecule, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 5762–5766.
- Horwitz A., Duggan K., Buck C., Beckerle M. C., Burridge K. (1986). Interaction of plasma membrane fibronectin receptor with talin-A transmembrane linkage, *Nature*, **320**, 531–533.
- Horwitz A., Duggan K., Greggs R., Decker C., Buck C. (1985). The cell substrate attachment (CSAT) antigen has properties of a receptor for laminin and fibronectin, *J. Cell Biol.*, **101**, 2134–2144.
- Humphries M. J., Akiyama S. K., Komoriya A., Olden K., Yamada K. M. (1986). Identification of an alternatively spliced site in human plasma fibronectin that mediates cell-type specific binding, *J. Cell Biol.*, **103**, 2637–2647.
- Ingvar S. (1920). Reactions of cells to galvanic current in tissue cultures, *Proc. Am. Soc. Exp. Biol. Med.*, **17**, 198–199.
- Jaffe L. F. (1981). The role of ionic current in establishing developmental pattern, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B*, **295**, 553–566.
- Jaffe L. F., Poo M.-M. (1979). Neurites grow faster toward the cathode than the anode in a steady field, *J. Exp. Zool.*, **209**, 115–128.
- Jaffe L. F., Stern C. D. (1979). Strong electrical currents leave the primitive streak of chick embryos, *Science*, **206**, 569–571.
- Kelly D. E. (1966). Fin structure of desmosomes, hemidesmosomes, and an adepidermal globular layer in developing newt epidermis, *J. Cell Biol.*, **28**, 51–72.
- Knudsen K., Horwitz A. F., Buck C. (1985). A monoclonal antibody identifies a glycoprotein complex involved in cell-substratum adhesion, *Exp. Cell Res.*, **157**, 218–226.
- Köhler G., Milstein C. (1975). Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity, *Nature*, **256**, 495–497.
- Lazarides E. (1976). Actin, α -actinin, and tropomyosin interaction in the structural organization of actin filaments in nonmuscle cells, *J. Cell Biol.*, **68**, 202–219.
- Lee S., Gilula N. B., Warner A. E. (1987). Gap junctional communication and compaction during preimplantation stages of mouse development, *Cell*, **51**, 851–860.
- Leptin M. (1986). The fibronectin receptor family, *Nature*, **321**, 728.
- Lewis C. A., Pratt R. M., Pennypacker J. P., Hassell J. R. (1978). Inhibition of limb hondrogenesis in vitro by vitamin A: Alteration in cell surface characteristics, *Dev. Biol.*, **64**, 31–47.
- Lilien J., Rutz R. (1977). A multicomponent model for specific cell adhesion. In: J. W. Lash and M. M. Burgess (eds.), *Cell and Tissue Interactions*, Raven, New York, pp. 187–195.
- Liotta L. A., Hand P. H., Rao C. N., Bryant G., Barsky S. H., Schlom J. (1985). Monoclonal antibodies to the human laminin receptor recognize structurally distinct sites, *Exp. Cell Res.*, **156**, 117–126.
- Lo C., Gilula N. B. (1979). Gap junctional communication in the preimplantation mouse embryo, *Cell*, **18**, 399–409.
- McClay D. R., Ettensohn C. A. (1987). Cell recognition during sea urchin gastrulation. In: W. F. Loomis (ed.), *Genetic Regulation of Development*, Allan R. Liss, New York, pp. 111–128.
- Merrell R., Glaser L. (1973). Specific recognition of plasma membranes by embryonic cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **70**, 2794–2798.
- Monroy A., Moscona A. A. (1979). *Introductory Concepts in Developmental Biology*, University of Chicago Press, Chicago.
- Moosker M. S., Tilney L. G. (1975). Organization of an actin filament-membrane complex: Filament polarity and membrane attachment in the microvilli of intestinal epithelial cells, *J. Cell Biol.*, **67**, 725–743.
- Moscona A. A. (1952). Cell suspension from organ rudiments of chick embryos, *Exp. Cell Res.*, **3**, 535–539.
- Moscona A. A. (1961). Rotation-mediated histogenetic aggregation of dissociated cells: A quantifiable approach to cell interaction in vitro, *Exp. Cell Res.*, **22**, 455–475.
- Nagafuchi A., Shirayoshi Y., Okazaki K., Yasuda K., Takeichi M. (1987). Transformation of cell adhesion properties of exogenously introduced E-cadherin cDNA, *Nature*, **329**, 341–343.
- Nardi J. B., Stocum D. L. (1983). Surface properties of regenerating limb cells: Evidence for gradation along the proximodistal axis, *Differentiation*, **25**, 27–31.
- Nicolson G. L. (1976). Transmembrane control of the receptors on normal and tumor cells, *Biochim Biophys. Acta*, **457**, 57–108.
- Nose A., Takeichi M. (1986). A novel cadherin adhesion molecule: Its expression patterns associated with implantation and organogenesis of mouse embryos, *J. Cell Biol.*, **103**, 2649–2658.
- Nuccitelli R. (1984). The involvement of transcellular ion currents and electric fields in pattern formation. In: G. M. Malacinski (ed.), *Pattern Formation: A Primer in Developmental Biology*, Macmillan, New York, pp. 23–46.
- Nuccitelli R., Erickson C. A. (1983). Embryonic cell motility can be guided by physiological electric fields, *Exp. Cell Res.*, **147**, 195–201.
- Orkin R. W., Knudson W., Toole P. T. (1985). Loss of hyaluronate-dependent coat during myoblast fusion, *Dev. Biol.*, **107**, 527–530.
- Palade G. E. (1985). Differentiated microdomains in cellular membranes: Current status. In: G. M. Edelman and J.-P. Thiery (eds.), *The Cell in Contact*, Wiley, New York, pp. 9–24.
- Pennypacker J. P., Hassell J. R., Yamada K. M., Pratt R. M. (1979). The influence of an adhesive cell surface protein on chondrogenic expression in vitro, *Exp. Cell Res.*, **121**, 411–415.
- Peracchia C., Dulhunty A. F. (1976). Low resistance junctions in

- crayfish: Structural changes with functional uncoupling. *J. Cell Biol.*, **70**, 419–439.
- Pierce M., Turley E. A., Roth S. (1980). Cell surface glycosyltransferase activities. *Int. Rev. Cytol.*, **65**, 1–47.
- Pierschbacher M. D., Ruoslahti E. (1984). The cell attachment activity of fibronectin can be duplicated by small synthetic fragments of the molecule. *Nature*, **309**, 30–33.
- Podleski T. R., Greenberg L., Schlessinger J., Yamada K. M. (1979). Fibronectin delays the fusion of L6 myoblasts. *Exp. Cell Res.*, **122**, 317–326.
- Poole T. J., Steinberg M. S. (1982). Evidence for the guidance of pronephric duct migration by a craniocaudally traveling adhesive gradient. *Dev. Biol.*, **92**, 144–158.
- Porzig E. F. (1978). Galactosyltransferase activity on intact neural retinal cells from the embryonic chicken. *Dev. Biol.*, **67**, 114–136.
- Radice G. P. (1980). The spreading of epithelial cells during wound closure in *Xenopus laevis*. *Dev. Biol.*, **76**, 26–46.
- Ratner N., Bunge R. P., Glaser L. (1985). A neuronal cell surface heparan sulfate proteoglycan is required for dorsal root ganglion neuron stimulation of Schwann cell proliferation. *J. Cell Biol.*, **101**, 744–754.
- Rieger F., Grunert M., Edelman G. M. (1985). N-CAM at the vertebrate neuromuscular junction. *J. Cell Biol.*, **101**, 285–293.
- Rosario R. A., Delouée A., Yamada K. M., Timpi R., Thiery J.-P. (1983). Neural crest cell migration: Requirements for exogenous fibronectin and high cell density. *J. Cell Biol.*, **96**, 462–473.
- Roseman S. (1970). The synthesis of complex carbohydrates by multi-glycosyltransferase systems and their potential in intercellular adhesion. *Chem. Phys. Lipids*, **5**, 270–297.
- Roth S., McGuire E. J., Roseman S. (1971a). An assay for intercellular adhesive specificity. *J. Cell Biol.*, **51**, 525–535.
- Roth S., McGuire E. J., Roseman S. (1971b). Evidence for cell-surface glycosyltransferases: Their potential role in cellular recognition. *J. Cell Biol.*, **51**, 536–551.
- Runyan R. B., Maxwell G. D., Shur B. D. (1986a). Evidence for a novel enzymatic mechanism of neural crest cell migration on extracellular glycoconjugate matrices. *J. Cell Biol.*, **102**, 432–441.
- Runyan R. B., Vrsalovic J., Shur B. D. (1986b). Cell surface galactosyltransferase as a laminin receptor. *J. Cell Biol.*, **103**, 260a.
- Ruoslahti E., Pierschbacher M. D. (1987). New perspectives in cell adhesion: RGD and integrins. *Science*, **238**, 491–497.
- Rutishauser U., Hoffman S., Edelman G. M. (1982). Binding properties of a cell adhesion molecule from neural tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 685–689.
- Rutishauser U., Jessell T. M. (in press). Cell adhesion molecules in vertebrate neural development. *Physiol. Rev.*
- San Antonio J. D., Winston B. M., Tuan R. S. (1987). Regulation of chondrogenesis by heparan sulfate and structurally related glycosaminoglycans. *Dev. Biol.*, **123**, 17–24.
- Shaper N. L., Mann P. L., Shaper J. H. (1985). Cell surface galactosyltransferase: Immunochemical localization. *J. Cell Biochem.*, **28**, 229–239.
- Shur B. D. (1977a). Cell surface glycosyltransferases in gastrulating chick embryos. I. Temporally and spatially specific patterns of four endogenous glycosyltransferase activities. *Dev. Biol.*, **58**, 23–29.
- Shur B. D. (1977b). Cell surface glycosyltransferases in gastrulating chick embryos. II. Biochemical evidence for a surface localization of endogenous glycosyltransferase activities. *Dev. Biol.*, **58**, 40–55.
- Shur B. D. (1982). Cell surface glycosyltransferase activities during normal and mutant (*T/T*) mesenchyme migration. *Dev. Biol.*, **91**, 149–162.
- Shur B. D., Oettgen P., Bennett D. (1979). UDP galactose inhibits blastocyst formation in the mouse: Implications for the mode of actin of *T/t*-complex mutations. *Dev. Biol.*, **73**, 178–181.
- Singer S. J., Nicolson G. L. (1972). The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*, **175**, 720–731.
- Spiegel M., Spiegel E. S. (1975). Reaggregation of dissociated embryonic sea urchin cells. *Am. Zool.*, **15**, 583–606.
- Steinberg M. S. (1964). The problem of adhesive selectivity in cellular interactions. In: M. Locke (ed.), *Cellular Membranes in Development*, Academic, New York, pp. 321–434.
- Steinberg M. S. (1970). Does differential adhesion govern self-assembly processes in histogenesis? Equilibrium configurations and the emergence of a hierarchy among populations of embryonic cells. *J. Exp. Zool.*, **173**, 395–434.
- Steinberg M. S. (1987). Lecture to the Mid-Atlantic Regional Developmental Biology Society, April 1987.
- Steinberg M. S., Poole T. J. (1982). Cellular adhesive differentials as determinants of morphogenetic movements and organ segregation. In: S. Subtelny and P. B. Green (eds.), *Developmental Order: Its Origin and Regulation*, Alan R. Liss, New York, pp. 351–378.
- Stocum D. L. (1986). Retinoids: Probes for understanding pattern regulation in regenerating amphibian limbs. In: R. M. Gorczynski (ed.), *Receptors in Cellular Developmental Processes*, Academic, New York, pp. 165–181.
- Stopak D., Harris A. K. (1982). Connective tissue morphogenesis by fibroblast traction. I. Tissue culture observations. *Dev. Biol.*, **90**, 383–398.
- Takeichi M. (1987). Cadherins: A molecular family essential for selective cell–cell adhesion and animal morphogenesis. *Trends Genet.*, **3**, 213–217.
- Takeichi M., Ozaki H. S., Tokunaga K., Okada T. S. (1979). Experimental Manipulation of cell surface to affect cellular recognition mechanisms. *Dev. Biol.*, **70**, 195–205.
- Tamkun J. W., DeSimone D. W., Fonda D., Patel R. S., Buck C., Horwitz A. F., Hynes R. O. (1986). Structure of integrin, a glycoprotein involved in transmembrane linkage between fibronectin and actin. *Cell*, **46**, 271–282.
- Thiery J.-P., Delouée A., Gallin W. J., Cunningham B. A., Edelman G. M. (1985). Initial appearance and regional distribution of the neuron–glia cell adhesion molecule of the chick embryo. *J. Cell Biol.*, **100**, 442–456.
- Thompson L. K., Horowitz P. M., Bentley K. L., Thomas D. D., Alderman J. F., Klebe R. J. (1986). *J. Biol. Chem.*, **261**, 5209–5214.
- Toole B. P. (1976). Morphogenetic role of glycosaminoglycans (acid mucopolysaccharides) in brain and other tissue. In: S. H. Barondes (ed.), *Neuronal Recognition*, Plenum, New York, pp. 276–329.
- Townes P. L., Holtfreter J. (1955). Directed movements and selective adhesion of embryonic amphibian cells. *J. Exp. Zool.*, **128**, 53–120.
- Trinkaus J. P. (1963). The cellular basis of *Fundulus* epiboly. Adhesivity of blastula cells in culture. *Dev. Biol.*, **7**, 513–532.
- Trinkaus J. P. (1985). Further thoughts on directional cell movement during morphogenesis. *J. Neurosci. Res.*, **13**, 1–19.
- Turley E. A., Roth S. (1979). Spontaneous glycosylation of glycosaminoglycan substrates by adherent fibroblasts. *Cell*, **17**, 109–115.
- Tyler A. (1946). An auto-antibody concept of cell structure, growth, and differentiation. *Growth* 10 (Symposium 6), 7–19.
- Ukena T. E., Berlin R. D. (1972). Effects of colchicine and vinblastine on the topological separation of membrane functions. *J. Exp. Med.*, **136**, 1–7.
- Venkatesh T. R., Zipursky S. L., Benzer S. (1985). Molecular analysis of the development of the compound eye in *Drosophila*. *Trends Neurosci.*, **8**, 251–257.
- Vuorio E. (1986). Connective tissue diseases: Mutations of collagen genes. *Ann. Clin. Res.*, **18**, 234–241.
- Warner A. E., Guthrie S. C., Gilula N. B. (1984). Antibodies to gap junctional protein selectively disrupt junctional communication.

- tion in the early amphibian embryo, *Nature*, **311**, 127-131.
- Weiss P. (1934). In vitro experiments on the factors determining the course of the outgrowing nerve fiber, *J. Exp. Zool.*, **68**, 393-448.
- Weiss P. (1945). Experiments on cell and axon orientation in vitro: The role of colloidal exudates in tissue organization, *J. Exp. Zool.*, **100**, 353-386.
- Weiss P. (1947). The problem of specificity in growth and development, *Yale J. Biol. Med.*, **19**, 235-278.
- Weiss P. (1955). Nervous system. In: B. H. Willer, P. Weiss and V. Hamburger (eds.), *Analysis of Development*, Saunders, Philadelphia, pp. 346-401.
- West C. M., Lanza R., Rosenbloom J., Lowe M., Holtzer H., Avdalovic N. (1979). Fibronectin alters the phenotypic properties of cultured chick embryo chondroblasts, *Cell*, **17**, 491-501.
- Whaley W. G., Dauwalder M., Kephart J. E. (1972). Golgi apparatus: Influence on cell surfaces, *Science*, **175**, 596-599.
- Wood A., Thorgood P. (1987). An ultrastructural and morphometric analysis of an in vivo contact guidance system, *Development*, **101**, 363-381.
- Woodruff R. L., Telfer W. H. (1974). Electrical properties of ovarian cells linked by intercellular bridges, *N. Y. Acad. Sci.*, **238**, 408-419.
- Yamada K. M., Critchley D. R., Fishman P. H., Moss J. (1983). Exogenous gangliosides enhance the interaction of fibronectin with ganglioside-deficient cells, *Exp. Cell Res.*, **143**, 295-302.
- Yamada K. M., Humphries M. J., Hasegawa T., Hasegawa E., Olden K., Chen W.-T., Akiyama S. K. (1985). Fibronectin: Molecular approaches to analyzing cell interactions with the extracellular matrix. In: G. M. Edelman and J.-P. Thiery (eds.), *The Cell in Contact*, Wiley, New York, pp. 303-332.
- Yamada K. M., Kennedy D. W. (1985). Amino acid sequence specificities of an adhesive recognition signal, *J. Cell Biochem.*, **28**, 99-104.
- Yelton D. E., Scharff M. D. (1980). Monoclonal antibodies, *Am. Sci.*, **68**, 510-516.
- Zackson S. L., Steinberg M. S. (1986). Cranial neural crest cells exhibit directed migration on the pronephric duct pathway: Further evidence for an in vivo adhesion gradient, *Dev. Biol.*, **117**, 342-353.
- Zackson S. L., Steinberg M. S. (1987). Chemotaxis or adhesion gradient? Pronephric duct elongation does not depend on distant sources of guidance information, *Dev. Biol.*, **124**, 418-422.
- Zigmond S. H. (1978). Chemotaxis by polymorphonuclear leukocytes, *J. Cell Biol.*, **77**, 269-287.
- Ziomek C. A., Schulman S., Edidin M. (1980). Redistribution of membrane proteins in isolated mouse intestinal epithelial cells, *J. Cell Biol.*, **86**, 849-857.
- Zipursky S. L., Venkatesh T. R., Teplow D. B., Benzer S. (1984). Neuronal development in the *Drosophila* retina: Monoclonal antibodies as molecular probes, *Cell*, **36**, 15-26.
- cally regulated cell surface proteoglycan that binds extracellular matrix and growth factors, *Phil. Trans. Roy. Soc. London (A)*, **327**, 171-186.
- Bixby J. L., Lilien J., Reichardt L. F. (1988). Identification of the major proteins that promote neuronal process outgrowth on Schwann cells in vitro, *J. Cell Biol.*, **107**, 353-361.
- Bronner-Fraser M. (1988). Distribution of tenascin during cranial neural crest development of the chick, *J. Neurosci. Res.*, **21**, 135-147.
- Brower D. L., Jaffe S. M. (1989). Requirement for integrins during *Drosophila* development, *Nature*, **342**, 285-287.
- Burridge K., Nuckolls G., Otey C., Pavalik F., Simon K., Turner C. (1990). Actin-membrane interactions in focal adhesions, *Cell Diff. Dev.*, In press.
- Carson D. D., Tang J.-P., Gay S. (1988). Collagens support embryo attachment and outgrowth in vitro: Effects of the Arg-Gly-Asp sequence, *Dev. Biol.*, **127**, 368-375.
- Covault J., Sanes J. R. (1986). Distribution of N-CAM in synaptic and extrasynaptic portions of developing and adult skeletal muscle, *J. Cell Biol.*, **102**, 716-730.
- Dufour S., Duband J.-L., Humphries M. J., Obara M., Yamada K. M., Thiery J. P. (1988). Attachment, spreading and locomotion of avian neural crest cells are mediated by multiple adhesion sites on fibronectin molecules, *EMBO J.*, **7**, 2661-2671.
- Eckstein D. J., Shur B. D. (1989). Laminin induces the stable expression of surface glycosyltransferases on lamellipodia of migrating cells, *J. Cell Biol.*, **108**, 2507-2517.
- Farach M. C., Tang J. P., Decker G. L., Carson D. D. (1987). Heparin heparan sulfate is involved in attachment and spreading of mouse embryos in vitro, *Dev. Biol.*, **123**, 401-410.
- Fraser S. E., Carhart M. S., Murray B. A., Chuong C.-M., Edelman G. E. (1988). Alterations in the *Xenopus* retinotectal projection by antibodies to *Xenopus* N-CAM, *Dev. Biol.*, **129**, 217-230.
- Fujimori T., Miyatani S., Takeichi M. (1990). Ectopic expression of N-cadherin perturbs histogenesis of *Xenopus* embryos, *Development*, **110**, 97-104.
- Harrelson A. L., Goodman C. S. (1988). Growth cone guidance in insects: Fasciclin-II is a member of the immunoglobulin superfamily, *Science*, **242**, 700-708.
- Hayashi Y., Haimovich B., Reszka A., Boettiger D., Horwitz A. (1990). Expression and function of chicken integrin $\beta 1$ subunit and its cytoplasmic domain mutants in mouse NIH3T3 cells, *J. Cell Biol.*, **110**, 175-184.
- Hemler M. E. (1990). VLA proteins in the integrin family: Structures, functions and their role on leucocytes, *Annu. Rev. Immunol.*, **8**, 365-400.
- Hemler M. E., Huang C., Schwartz L. (1987). The VLA protein family. Characterization of five distinct cell surface heterodimers each with a common 130,000 molecular weight β subunit, *J. Biol. Chem.*, **262**, 3300-3309.
- Hostikka S. L. (1990). Human type IV collagen, *Acta Univ. Oulu*.
- Kadokawa Y., Fuketa I., Nose A., Takeichi M., Nakatsuji N. (1989). Expression of E- and P-cadherin in mouse embryos and uteri during the periimplantation period, *Dev. Growth Diff.*, **31**, 23-30.
- Korhonen M., Yläne J., Laitinen L., Virtanen I. (1990). The α_1 - α_6 subunits of integrins are characteristically expressed in distinct segments of developing and adult human nephron, *J. Cell Biol.*, **111**, 1245-1254.
- Lander A. D. (1989). Understanding the molecules of neural cell contacts: Emerging patterns of structure and function, *Trends Neurosci.*, **12**, 189-195.
- Landmesser L., Dahm L., Schulz K., Rutishauser U. (1988). Distinct roles for adhesion molecules during innervation of embryonic chick muscle, *Dev. Biol.*, **130**, 645-670.
- Leptin M., Bogaert T., Lehmann R., Wilcox M. (1989). The

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА К 3-МУ ИЗДАНИЮ

- Argaves W. S., Dickerson K., Burgess W. H., Ruoslahti E. (1989). Fibulin, a novel protein that interacts with the fibronectin receptor β subunit cytoplasmic domain, *Cell*, **58**, 623-629.
- Beckerle M. C., Burridge K., DeMartino G. N., Croall D. E. (1987). Colocalization of calcium-dependent protease II and one of its substrates and sites of adhesion, *Cell*, **51**, 569-577.
- Begovac P. C., Shur B. D. (1990). Cell surface galactosyltransferase mediates the initiation of neurite outgrowth from PC12 cells on laminin, *J. Cell Biol.*, **110**, 461-470.
- Bernfield M., Sanderson D. (1990). Syndecan, a morphogeneti-

- genesis, function of PS integrins during *Drosophila* embryogenesis, *Cell*, **56**, 401–408.
- Linask K. L., Lash J. M. (1988a). A role for fibronectin in the migration of avian precardiac cells. I. Dose-dependent effects of fibronectin antibody, *Dev. Biol.*, **129**, 315–323.
- Linask K. L., Lash J. W. (1988b). A role for fibronectin in the migration of avian precardiac cells. II. Rotation of the heart-forming region during different stages and its effects, *Dev. Biol.*, **129**, 324–329.
- Nagafuchi A., Takeichi M. (1989). Transmembrane control of cadherin-mediated cell adhesion: A 94-kDa protein functionally associated with a specific region of cytoplasmic domain of E-cadherin, *Cell. Reg.*, **1**, 37–44.
- Nose A., Nagapechi A., Takeichi M. (1988). Expressed recombinant cadherins mediate cell sorting in model systems, *Cell*, **54**, 993–1001.
- Ohara M., Kang M. S., Yamada K. M. (1988). Site-directed mutagenesis of the cell-binding domain of human fibronectin: Separable, synergistic sites mediate adhesive function, *Cell*, **53**, 649–657.
- Rutishauser U., Jessell T. M. (1988). Cell adhesion molecules in vertebrate neural development, *Physiol. Rev.*, **68**, 819–857.
- Solowska J., Guan J.-L., Marcantonio E. E., Trevithick J. E., Buck C. A., Hynes R. O. (1989). Expression of normal and mutant avian integrin subunits in rodent cells, *J. Cell Biol.*, **109**, 853–861.
- Sorokin L., Sonnenberg A., Aumailley M., Timpl R., Ekblom P. (1990). Recognition of the laminin E8 cell binding site by an integrin possessing α_6 subunit is essential for epithelial polarization in developing kidney tubules, *J. Cell Biol.*, **111**, 1265–1273.
- Spring J., Beck K., Chiquet-Ehrismann R. (1989). Two contrary functions of tenascin: Dissection of the active sites by recombinant tenascin fragments, *Cell*, **59**, 325–334.
- Takeichi M. (1987). Cadherins: A molecular family essential for selective cell–cell adhesion and animal morphogenesis, *Trends Genet.*, **3**, 213–217.
- Tan S.-S., Crossin K. L., Hoffman S., Edelman G. M. (1987). Asymmetric expression of somites of cytotactin and its proteoglycan ligand is correlated with neural crest cell migration, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 7977–7981.
- Thesleff I., Vainio S., Jalkanen M. (1989). Cell-matrix interactions in tooth development, *Int. J. Dev. Biol.*, **33**, 91–95.
- Tosney K. W., Watanabe M., Landmesser L., Rutishauser U. (1986). The distribution of N-CAM in the chick hindlimb during axon outgrowth and synaptogenesis, *Dev. Biol.*, **114**, 468–481.
- Vainio S., Jalkanen M., Lehtonen E., Bernfield M. (1989). Epithelial-mesenchymal interactions regulate stage-specific expression of a cell surface proteoglycan, syndecan, in the developing kidney, *Dev. Biol.*, **134**, 382–391.
- Wehrle B., Chiquet M. (1990). Tenascin is accumulated along developing peripheral nerves and allows neurite outgrowth in vivo, *Development*, **110**, 401–415.
- Werb Z., Tremble P., Damsky C. H. (1990). Regulation of extracellular matrix degradation by cell–extracellular matrix interaction, *Cell Differ. Dev.* [Suppl.], In press.
- Wilcox M., DiAntonio A., Leptin M. (1989). The functions of the PS integrins in *Drosophila* wing morphogenesis, *Development*, **107**, 891–897.
- Williams A. F., Barclay A. N. (1988). An Immunoglobulin superfamily: Domains for cell surface recognition, *Annu. Rev. Immunol.*, **6**, 381–405.
- Yow H., Wong J. M., Chen H. S., Lee C., Steel G. D., Jr., Chen L. B. (1988). Increased mRNA expression of a laminin-binding protein in human colon carcinoma: Complete sequence of a full-length cDNA encoding the protein, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 6394–6398.

Глава 16

Ближние тканевые взаимодействия. Вторичная индукция

Стремление к истине гораздо ценнее уверенности в обладании ею.

Г. ЛЕССИНГ (1778)

Имея дело с такой сложной системой, как развивающийся зародыш, бесполезно спрашивать, «детерминирован» ли зачаток того или иного органа и «детерминируют» ли его какие-то одни признаки окружения при исключении влияния со стороны других. Здесь может участвовать множество факторов, действие которых образует сложное переплетение. Чтобы распутать этот клубок, мы должны изучать, каким образом взаимодействует данная система с другими частями зародыша на последовательных стадиях развития, учитывая возможно большее разнообразие экспериментальных условий.

Р. ДЖ. ГАРРИСОН (1933)

Введение

В предыдущей главе мы говорили о том, что клеточная поверхность играет важную роль в обеспечении прилежащих клеток пространственной информацией. В этой и в следующей главах мы обсудим, каким образом клеточные ансамбли влияют на поведение соседних клеточных популяций, в результате чего формируются ткани и органы. Органы представляют собой сложные образования, состоящие из тканей многих типов. Изучая такой орган, как, например, глаз, мы обнаруживаем, что свет, проникая через прозрачную ткань роговицы, фокусируется тканью хрусталика, диаметр которого регулирует мышечная ткань, и, наконец, падает на ткань нейральной сетчатки. Расположение тканей в этом органе нельзя изменить, не нарушив при этом его функции. Такая координация в строении органов достигается благодаря тому, что одна группа клеток может изменить поведение соседнего набора клеток, а именно изменить форму клеток, митотическую активность или дифференцировку.

Взаимодействие на близком расстоянии, или **ближнее взаимодействие**, дает возможность одной группе клеток реагировать на другую группу клеток и, изменившись, часто приобретать способность изменять третий набор клеток. Это явление было названо **вторичной индукцией**.

Инструктивные и разрешающие взаимодействия

Говард Хольцер (Holtzer, 1968) выделил два основных типа ближних тканевых взаимодействий. К первому типу относятся **разрешающие взаимодействия**. При этом отвечающая ткань потенциально готова к экспрессии и нуждается только в определенных условиях, которые разрешили бы экспрессию ее признаков. Многие развивающиеся ткани для своего развития требуют плотного субстрата, содержащего фибронектин или ламинин. Последние не изменяют тип образующихся клеток, а лишь дают этим клеткам возможность экспрессироваться.

Другой тип ближних тканевых взаимодействий — **инструктивные взаимодействия**. При такого рода взаимодействиях изменяется тип отвечающей ткани. Так, в гл. 8 мы обсуждали способность хорды индуцировать формирование будущих клеток дна нервной трубки. На сигнал со стороны хорды способны реагировать все клетки нервной трубки, но индуцируются только ближайшие к хорде. Другие будут дифференцироваться в ином направлении. Кроме того, если у зародыша удалить хорду, то клетки, дающие при нормальном развитии дно будущей нервной трубки, будут дифференцироваться по другому типу, а если зародышу имплантировать

дополнительную хорду сбоку от нервной трубки, то эта новая хорда индуцирует вторичный набор клеток дна будущей нервной трубки. Отвечающие клетки нервной трубки оказываются каким-то образом инструктированными относительно того, что им следует экспрессировать набор генов, отличающийся от набора, который они экспрессировали бы, не оказавшись в контакте с клетками хорды. Поэтому хорду называют тканью, действующей *инструктивно*. Были предложены (Wessells, 1977) четыре общих правила, характерные для большей части инструктивных взаимодействий.

1. В присутствии ткани А отвечающая на ее воздействие ткань Б развивается в определенном направлении.
2. В отсутствие ткани А отвечающая ткань Б не развивается в этом направлении.
3. В отсутствие ткани А, но в присутствии ткани В ткань Б не развивается в этом направлении.
4. В присутствии ткани А ткань Г, которая в нормальных условиях развивалась бы в ином направлении, изменяясь, развивается как Б.

Компетенция

Следует отметить, однако, что в случае четвертого правила отвечающая ткань должна быть **компетентной** к ответу. Компетенцией называют способность отвечать на индукционный сигнал (Waddington, 1940). Это не пассивное состояние, его приобретение обусловлено определенной активностью ткани. Подробно рассматривая процесс индукции нервной трубки в гл. 8, мы останавливались на наблюдениях, свидетельствующих о том, что эктодерма гастролы может быть индуцирована дорсальной губой blastopora или производными мезодермы. Таким образом, об эктодерме гастролы можно сказать, что она **компетентна** к восприятию индукционных стимулов. Эта компетенция для нейральной индукции приобретается на стадиях позднего дробления и утрачивается на стадиях поздней гастролы. По мере снижения компетенции отвечать на индукционные сигналы дорсальной губы blastopora та же самая эктодерма приобретает компетенцию отвечать на индукторы хрусталика. Позже компетенция к индукторам хрусталика утрачивается, но эктодерма может реагировать на индукторы слуховых плакод (Servetnick, Grainger, 1990). Следовательно, компетенция сама по себе является дифференцированным фенотипом, различающим клетки во времени и в пространстве.

Механизмы, позволяющие клетке становиться компетентной, не известны, но полагают, что компетенция может быть приобретена несколькими способами. Во-первых, клетка может стать компетент-

ной в результате синтеза рецепторов к молекулам индуктора, подобно тому как способность отвечать на гормон, например тироксин, зависит от наличия у клетки рецепторов к этому гормону. Во-вторых, клетка может приобрести компетенцию в результате синтеза молекул, позволяющих рецепторам функционировать. Рецепторы сами по себе могут связать индуктор, но это еще не означает, что они станут функциональными. Функция рецептора часто выражается в направлении сигнала к ядру, подобно тому как связывание лиганда спермией соответствующими рецепторами яйца дает начало целому каскаду таких сигналов. При отсутствии одного из ферментов, участвующих в этом каскаде, сигнал не передается. Поэтому клетка может приобрести компетенцию, синтезируя недостающее звено на пути передачи сигнала.

В-третьих, компетенция может быть приобретена путем репрессии ингибитора. При наличии ингибитора клетка, способная связать индуктор и послать сигнал к ядру, тем не менее не становится индуцированной. Например, индукторы часто вызывают изменение формы клеток (как в случае индукции нервной трубки). Если способность изменять форму будет ингибирована, то клетка не прореагирует на индуктор. Примером тому может служить индукция эктодермальных структур — нервной трубки, хрусталика, уха и перьев у куриного зародыша. В клетках эпибласта куриного зародыша содержится специальный белок, который с началом нейруляции утрачивается в области головы и презумптивной нервной пластинки, но сохраняется в клетках презумптивного эпидермиса (Charlebois et al., 1990; Grunwald et al., 1990; рис. 16.1). Эпидермальные клетки утрачивают этот белок непосредственно перед формированием перьев. Таким образом, утрата данного цитоскелетного белка коррелирует со способностью клетки изменять форму в ответ на индукцию.

Каскады межклеточных взаимодействий. Индукция хрусталика

Ближние клеточные взаимодействия лежат в основе механизма, обеспечивающего координированное развитие органов, поскольку отвечающая ткань также может стать индуцирующей тканью. В каскаде индукций, приводящих к образованию глаза (рис. 8.24), хорда индуцирует возникновение нервной трубки; выпячивание нервной трубки — глазной пузырь — в результате контакта с эктодермой инструктирует ее клетки к превращению в хрусталик. В свою очередь хрусталик инструктирует образование роговицы в эпидермисе, который располагается непосредственно над ним.

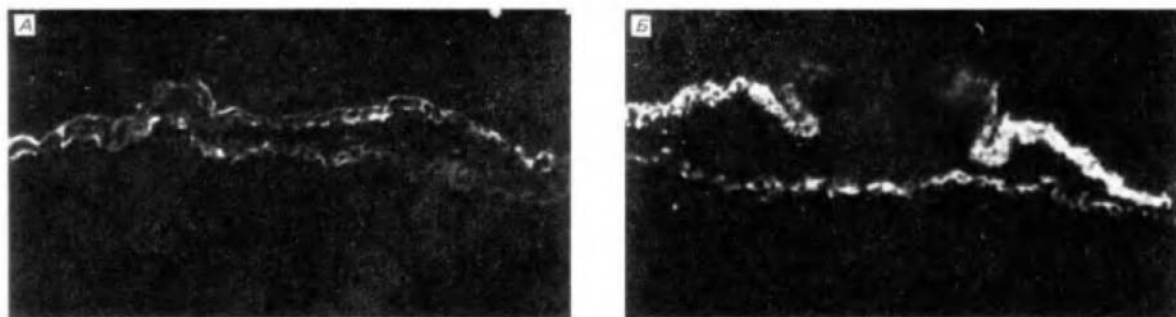


Рис. 16.1. Утрата цитоскелетного белка теми эктодермальными клетками куриного зародыша, которые изменяют свою форму во время нейруляции. А. Поперечный срез эпибласта и гипобласта однодневного куриного зародыша, окрашенного флуоресцирующими антителами к специфическому белку этих клеток – цитокератину. Б. Утрата этого белка клетками, которые образуют нервную пластинку. (Из Grunwald et al., 1990; фотографии с любезного разрешения этих авторов.)

У многих видов формирование хрусталика происходит лишь после того, как эктодерма приходит в контакт с глазным пузырем (рис. 16.2) (Harrison, 1920; Spemann, 1938). Имеются, однако, виды, в том числе некоторые амфибии, у которых индуктором хрусталика может быть не только глазной пузырь (рис. 16.3). Якобсон (Jacobson, 1966) связал индукцию хрусталика у амфибий с рядом тканей, которые контактируют с головной эктодермой по мере ее дифференцировки. Во время гастрюляции презумптивная эктодерма хрусталика сначала располагается над энтодермальной тканью развивающейся глотки, а затем перемещается над областью мезодермальных клеток сердца. И только после нейруляции с презумптивными клетками хрусталика вступает в контакт глазной пузырь. Якобсон предположил, что каждая из этих тканей в индукции хрусталика выполняет вспомогательную функцию. У одних видов порог для индукции хрусталика относительно низок, и в таких случаях

достаточно контакта с энтодермой. У других видов порог высок, и в этих случаях должны быть активны все три индуктора.

Современные исследования, выполненные на *Xenopus*, не акцентируя внимания на роли мезодермы и энтодермы, подчеркивают важность передней части нервной пластинки в качестве индуктора эктодермы хрусталика. Эти эксперименты свидетельствуют о том, что презумптивная эктодерма хрусталика приобретает способность стать хрусталиком на очень ранних этапах развития (от поздней гастрюлы со средней нейрулы) и что глазной пузырь только локализует дифференцировку этой уже автономной ткани. Другими словами, головная эктодерма сформирует хрусталики и без контакта с глазным бокалом, но последний необходим для полной дифференцировки хрусталика и его правильного расположения по отношению к остальному глазу. В соответствии с этой моделью (Saha et al., 1989; Henry, Grainger, 1990) процесс детерминации экто-

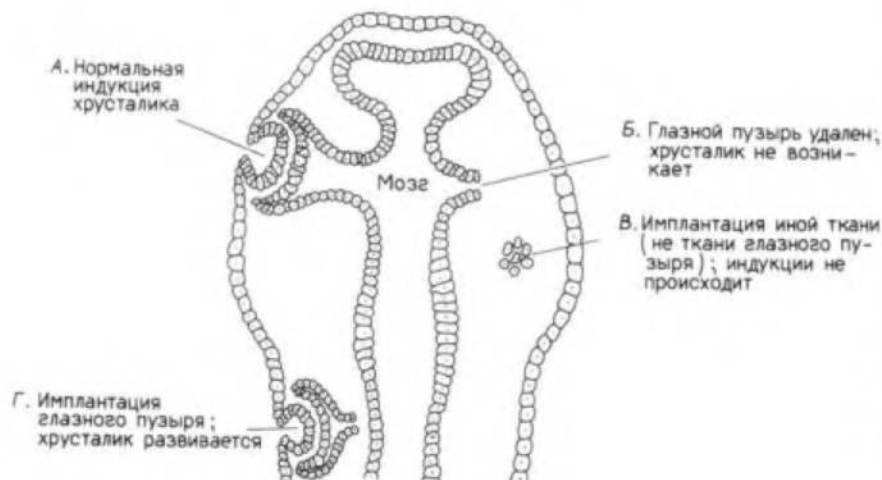


Рис. 16.2. Инструктивные взаимодействия тканей. Продольный срез головы обобщенного зародыша позвоночных, на котором представлена схема эксперимента, демонстрирующего инструктивное взаимодействие. В данном случае это индукция глазным пузырем хрусталика в эктодерме головы. А. Нормальная индукция. Б. В отсутствие глазного пузыря хрусталик не формируется. В. Замена глазного пузыря другой тканью не вызывает индукции. Г. При контакте глазного пузыря с эктодермой головы в другой области головного отдела происходит индукция хрусталика в необычном месте. (По Wessells, 1977.)

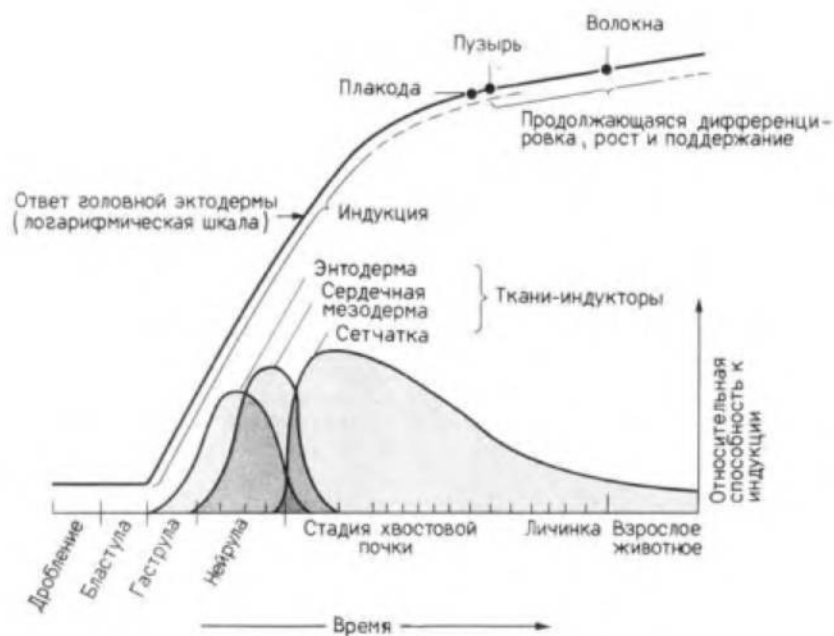


Рис. 16.3. Графическое представление индукции хрусталика у зародыша саламандры. Способность индуцировать ткань хрусталика впервые наблюдается у энтодермы, затем у сердечной мезодермы и, наконец, у ткани сетчатки, которая приобретает это свойство незадолго до контакта с головной эктодермой. Тем временем по мере развития от ранней гастрюлы к стадиям хвостовой почки компетенция головной эктодермы отвечать на индукцию логарифмически возрастает. (По Jacobson, 1966.)

дермы хрусталика подразделяется на три стадии: приобретение компетенции, предрасположенности и окончательная детерминация. Полагают, что приобретение компетенции к ответу на первоначальный индуцирующий сигнал представляет собой автономный процесс, присущий эктодерме, предрасположенность к образованию хрусталика обеспечивается передней областью нервной пластинки, а окончательная детерминация индуцируется глазным пузырем.

Компетенция и предрасположенность эктодермы

В 1987 г. Генри и Грейнджер (Henry, Grainger, 1987) показали, что детерминация способности к образованию хрусталика у зародышей *Xenopus* происходит очень рано. Пересаживая эктодерму из разных областей гастрюлы *Xenopus* в образующие хрусталик области нейрулы, эти авторы пытались определить, когда эктодерма приобретает способность формировать хрусталик под действием глазного пузыря. Оказалось, что эктодерма очень молодых гастрюл этим свойством не обладает. Оно появляется у трансплантатов из той же самой проспективной эктодермы хрусталика более поздних зародышей, пересаженных в нейрулу (табл. 16.1). Никакая иная ткань не могла реагировать на глазной пузырь таким образом. Другие эктодермальные области гастрюл также проявляли ограниченную способность формировать хрусталики, но эта способ-

ность утрачивалась ими по мере развития зародыша.

Таким образом, оказывается, что образующая хрусталик эктодерма приобретает способность к формированию хрусталика задолго до контакта с глазным пузырем. Когда и как приобретается это свойство? Основываясь на результатах, полученных Ньюкупом (Nieuwkoop, 1952), можно предположить, что сигнал от нервной пластинки идет по эктодерме. Способна ли нервная пластинка индуцировать занимающий по отношению к ней латеральное положение презумптивный эпидермис к превращению в образующую хрусталик эктодерму? Генри и Грейнджер (Henry, Grainger, 1990) проверили это предположение, комбинируя проспективную переднюю область нервной пластинки поздней гастрюлы с эктодермой, в перспективе образующей хрусталик. Оказалось, что эктодерма, изолированная из потенциально образующей хрусталик области зародыша, при отдельном культивировании хрусталиковых белков не образует, но та же самая область при культивировании с проспективной тканью передней части нервной пластинки начинает синтезировать эти белки. И хотя дифференцировка хрусталика часто бывает неполной, она очень специфична. Белки хрусталика не образуются, если эктодерму гастрюлы комбинировать с другими тканями, в частности с энтодермой передней кишки или с сердечной мезодермой. Результаты этих экспериментов свидетельствуют о том, что именно передний отдел проспективной нервной пластинки (включающий область будущей сетчатки) обеспечивает сигнал,

Таблица 16.1. Зависимость чувствительности проспективной эктодермы хрусталика к действию индуктора от возраста зародыша

Возраст донора	Операция донор — хозяин	Число зародышей	Индукция хрусталиков, %	Хрусталикоподобные тела, %	Утолщение эктодермы, %	Нехрусталикоподобные тела, %	Нет ответа, %	Общее число положительных результатов
Средняя гастрюла		24	0	4	38	8	50	1 (4%)
Поздняя гастрюла		21	10	14	42	10	24	5 (24%)
Ранняя нейрула		24	75	8	0	4	13	20 (83%)
Поздняя нейрула		20	95	5	0	0	0	20 (100%)

Источник: Henry, Grainger, 1987.

который делает эту ткань предрасположенной к тому, чтобы стать хрусталиком.

Но все ли ткани способны отвечать на сигнал, идущий от передней части нервной пластинки? Было показано (Servetnick, Grainger, 1990), что компетентной к ответу на эти сигналы является только эктодерма переходящей от средней к поздней стадии гастрюлы. Чтобы выявить это, удаляли эктодерму анимальной шапочки на разных стадиях гастрюляции и затем трансплантировали ее в область презумптивного хрусталика зародышу на стадии нервной пластинки. Эктодерма ранних гаструл в очень незначительной степени проявляла компетенцию к формированию хрусталиков или не проявляла ее вовсе (о компетенции судили по синтезу белков кристаллинов), но эктодерма несколько более продвинутых стадий могла формировать хрусталики. К концу гастрюляции способность реагировать на сигнал нервной пластинки утрачивалась. Создается впечатление, что компетенция присуща самой эктодерме, а не индуцируется окружающими тканями. Эктодерму анимальной шапочки зародышей разных стадий можно удалить, некоторое время культивировать *in vitro* и затем вернуть в зародыш на стадии нервной пластинки. Такая эктодерма проявляла характерную компетенцию, несмотря на то что ее развитие частично протекало в чашке Петри. Следовательно, эктодерма приобретает компетенцию отвечать на индуцирующие сигналы со стороны передней части нервной пластинки на ранней стадии средней гастрюлы, а во время поздней гастрюлы передняя часть нервной пластинки индуцирует в этой ткани предрасположенность к образованию хрусталика. Сходные эксперименты показывали,

что дорсолатеральная мезодерма на этой стадии, хотя и не индуцирует в эктодерме предрасположенность к образованию хрусталика, но усиливает такую предрасположенность, сообщаемую нервной пластинкой.

Окончательная детерминация хрусталика

Несмотря на то что у *Xenopus* глазной пузырь, по-видимому, не играет ведущей роли в начальной индукции образования хрусталика, он, безусловно, играет какую-то роль в экспрессии полного фенотипа хрусталика. Хрусталики, формирующиеся при отсутствии глазного пузыря, обычно рудиментарны. Пока не известна точная функция глазного пузыря — имеет ли он прямое положительное влияние на дифференцировку зрительной плакаты в полностью дифференцированный хрусталик или его влияние заключается в удалении ингибитора дифференцировки хрусталика. Высказано предположение (von Woellwarth, 1961; Henry, Grainger, 1987), что клетки головного нервного гребня препятствуют дифференцировке хрусталика и контакт с глазным пузырем защищает хрусталиковую плакату от этих ингибирующих сигналов.

Образование роговицы

Как только произойдет инвагинация хрусталиковой плакаты, она покрывается двумя слоями прилежащей эктодермы. Теперь индуктором становится развивающийся хрусталик. Эктодерма, которая должна стать роговицей, вероятно, также де-

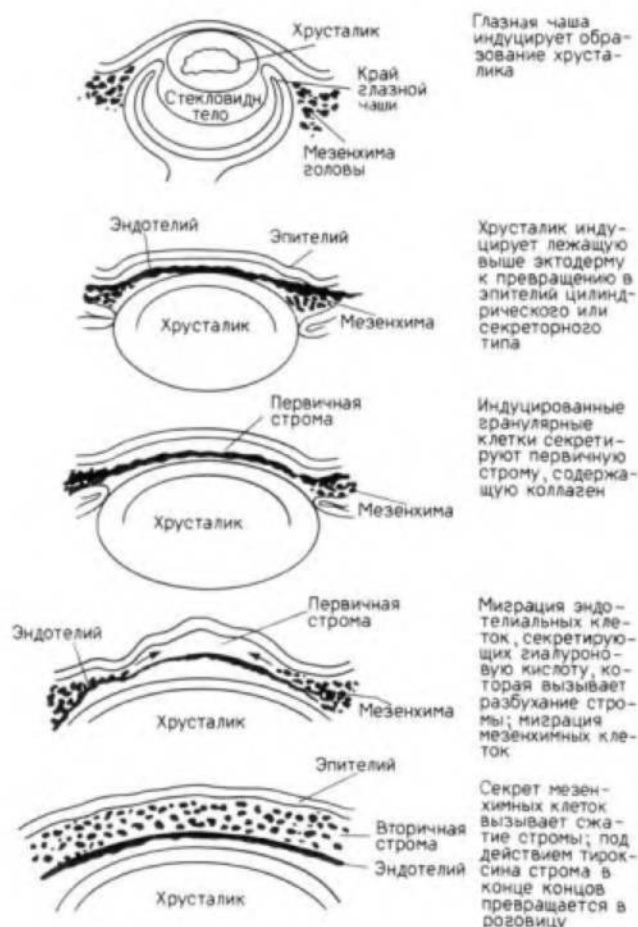


Рис. 16.4. Развитие роговицы. Под индуктивным воздействием хрусталика эпителий роговицы дифференцируется и секретирует первичную строму, состоящую из слоев коллагена. Затем эндотелиальные клетки в этой области секретируют гиалуроновую кислоту, создавая условия для вхождения сюда мезенхимных клеток из нервного гребня. После этого гиалуронидаза (секретируемая либо мезенхимой, либо эндотелием) расщепляет гиалуроновую кислоту, вследствие чего первичная строма сжимается. (По Nau, Revel, 1969.)

терминируется на ранних стадиях развития (Meier, 1977). Процесс дифференцировки роговицы заключается в следующем. Под действием ткани хрусталика клетки покрывающей эктодермы становятся цилиндрическими и заполняются секреторными гранулами. Эти гранулы перемещаются к основанию клеток и секретируются, образуя **первичную строму**, содержащую до 20 слоев коллагена типов I и II (рис. 16.4). В эту область из соседних капилляров мигрируют эндотелиальные клетки и здесь, в первичной строме, секретируют в матрикс гиалуроновую кислоту. Гиалуроновая кислота вызывает набухание матрикса, который становится хорошим субстратом для двух волн миграции мезенхимных клеток, происходящих из нервного гребня. Мезенхимные клетки второй волны после вхождения в матрикс остаются в нем, секретируя коллаген типа I и гиалуронидазу. Гиалуронидаза вызывает сжатие стромы. Под действием тироксина, выделяемого развивающейся щитовидной железой, происходит обезвоживание этой **вторичной стромы**, и богатый коллагеном матрикс эпителиальной и мезенхимной тканей становится прозрачной **роговицей**.

Мы убеждаемся, таким образом, что «простые» индукционные взаимодействия в действительности представляют собой хорошо отрежиссированные спектакли, в которых актеры должны появляться на сцене и произносить свою роль в строго определенное время и в строго определенном месте. Получив новую информацию, они могут передать эту информацию, для того чтобы ею воспользовались другие. Учитывая это, мы можем приступить к изучению некоторых принципов, касающихся вторичной индукции, на примерах других развивающихся органов.

Эпителио-мезенхимные взаимодействия

Среди наиболее хорошо изученных случаев вторичной индукции основное место занимают взаимодействия эпителиальных слоев с прилежащими ме-

Таблица 16.2. Некоторые эпителио-мезенхимные взаимодействия

Орган	Эпителиальный компонент	Мезенхимный компонент
Производные покровов (волосы, перья, потовые железы, молочные железы, зубы)	Эпидермис (эктодерма)	Дерма (мезодерма)
Почки конечностей	Эпидермис (эктодерма)	Мезенхима (мезодерма)
Органы пищеварения (печень, поджелудочная железа, слюнные железы)	Эпителий (энтодерма)	Мезенхима (мезодерма)
Органы, связанные с глоткой и дыхательной системой (легкие, тимус, щитовидная железа)	Эпителий (энтодерма)	Мезенхима (мезодерма)
Почки	Эпителий зачатка мочеточника (мезодерма)	Мезенхима (мезодерма)

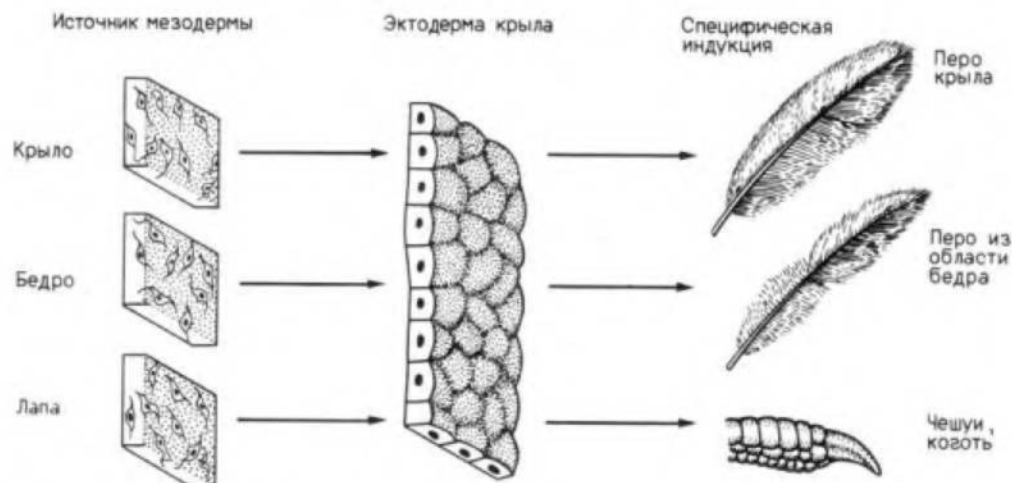


Рис. 16.5. Региональная специфичность индукции. Если клетки дермы (мезодермальное происхождение) рекомбинировать с эпидермисом (эктодермальное происхождение) цыпленка, то характер возникающих кожных структур определяется первоначальным положением мезодермы. (По Saunders, 1980.)

зенхимными клетками. Они называются **эпителио-мезенхимными** взаимодействиями. Эпителий может происходить из любого зародышевого листка, тогда как мезенхима обычно происходит от рыхлой мезодермальной ткани. Примеры эпителио-мезенхимных взаимодействий перечислены в табл. 16.2.

Региональная специфичность индукции

На примере индукции структур-производных покровов тела – рассмотрим характерные особенности эпителио-мезенхимных взаимодействий, где особенно четко прослеживается явление региональной специфичности индукции. Кожа состоит из двух основных слоев – наружного эпидермиса, происходящего из эктодермы, и собственно кожи, или дермы, происходящей из мезодермы. Кожа цыпленка дает начало трем типам покровных структур, почти полностью образованных эктодермальными клетками. Это широкие перья крыла, узкие перья голени и чешуи и когти ног. Отделив эмбриональные эпителий и мезенхиму друг от друга, можно затем совмещать их друг с другом различными способами (Saunders et al., 1957). Как видно из рис. 16.5, за специфичность индукции отвечает мезенхима. Тот же самый тип компетентной эктодермы развивается в соответствии с областью происхождения мезодермы. Таким образом, мезенхима играет инструктивную роль, включая в игру разные наборы генов отвечающих клеток.

Генетическая специфичность индукции

Если мезенхима может инструктировать эпителий относительно набора генов, который следует

активизировать, то отвечающая эктодерма может подчиниться этой информации лишь постольку, поскольку это позволяет ее геном. В эксперименте, ставшем классическим, Ганс Шпеман и Оскар Шотте (Spemann, Schotté, 1932) трансплантировали боковую эктодермальную ткань ранней гаструлы лягушки в область гаструлы тритона, которая впоследствии даст часть рта. Сходным образом, презумптивная боковая эктодермальная ткань гаструлы тритона была помещена в презумптивную оральную область зародышей лягушки. Следует заметить, что ротовые структуры у личинок тритонов и лягушек резко различаются. У личинок тритона под ртом находятся балансёры, а у головастика лягушки – секретирующие слизь железы, или присоски (рис. 16.6). Кроме того, головастики имеют роговую челюсть с зубчиками, а личинки тритонов – известковые зубы. Личинки, образовавшиеся в результате трансплантации, оказались химерами. Личинки тритонов обладали лягушачьим ртом, а головастики лягушки имели зубы и балансёры. Иначе говоря, мезодермальные клетки инструктировали эктодерму к формированию рта, но эктодерма отвечала образованием только такого рта, который она «знала», несмотря на то что он здесь совершенно неуместен¹.

Подобную генетическую специфичность можно наблюдать при комбинировании кожи цыпленка и мыши (Coulombre, Coulombre, 1971). Если экто-

¹ Говорят, что Шпеман излагал это так: «Эктодерма говорит индуктору: „Ты велел мне сделать рот; хорошо, я сделаю это, но я не могу сделать такой, как ты хочешь, я могу сделать свой, и я его сделаю“». (Цитата из Harrison, 1933.)

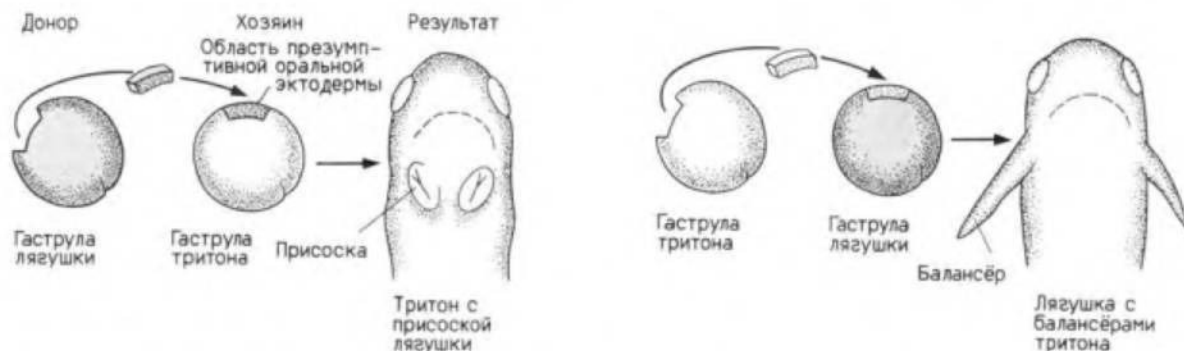


Рис. 16.6. Генетическая специфичность индукции. Реципрокная трансплантация областей презумптивной оральной эктодермы гаструл тритона и лягушки приводит к развитию личинок тритона с присосками головастика и головастика лягушки с балансирами тритона. (По Hamburger, 1970.)

дерму, при нормальном развитии куриного зародыша дающую роговицу, изолировать и скомбинировать с кожной мезодермой также куриного зародыша, то эктодерма даст зачатки перьев, типичные для птиц. Более того, если та же самая ткань — презумптивная эктодерма роговицы — будет скомбинирована с мышечной кожной мезодермой, то также появятся зачатки перьев (рис. 16.7). Мышечная мезодерма проинструктировала роговицу цыпленка о необходимости приступить к формированию покровной структуры. Для мыши в норме ею должны быть волосы. Однако компетентная эктодерма куриного зародыша наилучшим образом выполняет инструкцию, образуя свои покровные структуры, а именно перья.

Таким образом, инструкции, посылаемые мезодермальной тканью, могут преодолевать видовые барьеры. Ткани тритона отвечают на сигналы, по-

сылаемые тканями лягушки; ткани куриного зародыша отвечают на действие индукторов млекопитающих. Вместе с тем ответ эпителия является видоспецифическим для данного эпителия. Следовательно, если органоспецифичность (перо или коготь) в пределах вида обычно контролируется мезенхимой, то видоспецифичность, как правило, контролируется отвечающим эпителием.

В 1980 г. эти наблюдения были использованы для восстановления давно утраченной структуры — зубов у курицы (Kollar, Fisher, 1980). Эпителий из области формирования челюсти 5-суточных куриных зародышей (первая и вторая жаберные дуги) изолировали и комбинировали с мезенхимой коренных зубов 16-18-суточных зародышей мыши. После взаимной адгезии этих совмещенных тканей их культивировали в передней камере глаза мыши. В случае нескольких рекомбинаций сформировались

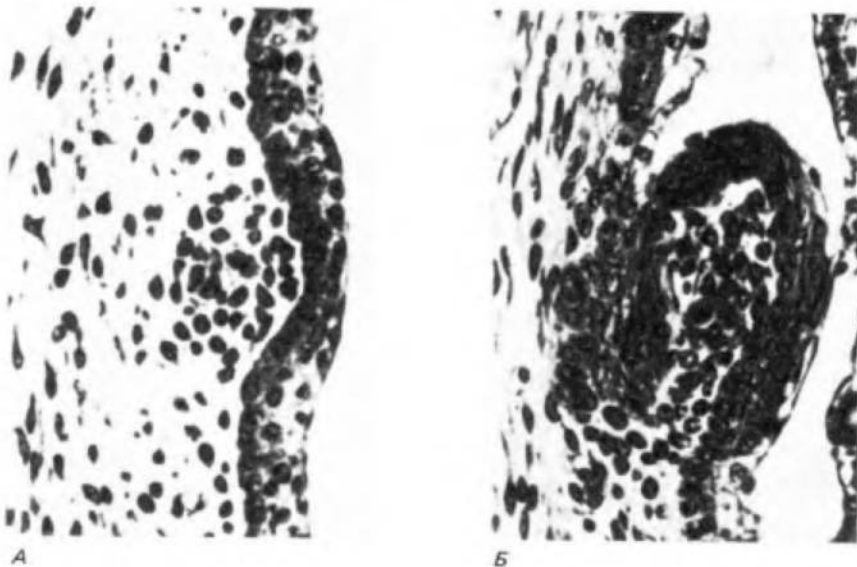


Рис. 16.7. Генетическая специфичность индукции покровов. А. Срез области роговицы 17-дневного куриного зародыша. Спустя 5 сут инкубации хрусталик этого глаза был замещен дермой, взятой с боковой поверхности раннего мышечного зародыша. Скопление клеток зародыша мыши расположено непосредственно под эпителием куриного зародыша. Б. У таких зародышей из эпителия роговицы формируется перо. В зачатке пера имеются мышечные клетки. (Из Coulombre, Coulombre, 1971; фотографии с любезного разрешения A. J. Coulombre.)



зубы, напоминающие зубы этого типа млекопитающих (рис. 16.8). Клетки жаберных дуг куриного зародыша, не создававшие зубов почти 10 млн. лет, все еще хранят этот генетический потенциал, который может быть реализован при наличии соответствующего индуктора.

Рис. 16.8. «Куриный зуб», сформировавшийся в результате совмещения глоточного эпителия цыпленка (презюмтивная челюсть) с мезенхимой коренного зуба мыши. (Из Kollar, Fisher, 1980, фотография с любезного разрешения E. J. Kollar.)

Дополнительные сведения и гипотезы

Развитие и макроэволюция

Эволюция не создает новшеств из ничего. Скорее она включает наследственные изменения в развитие существующих организмов. В результате отбора этих изменений часто происходит трансформация структуры, которая получает новую функцию. Биохимические различия между видами не служат причиной их дивергентных фенотипов; если небольшие изменения в генах, кодирующих белки, и дают организму селективное преимущество, то они не могут произвести птицу из рептилии или человека из примитивной обезьяны. Кстати, усредненный полипептид человека более чем на 99% идентичен таковому шимпанзе (King, Wilson, 1975).

Общеприняты представления (Goldschmidt, 1933; Jacob, 1977) о том, что крупные эволюционные изменения происходят в результате мутаций в регуляторных генах. Небольшие изменения в числе клеточных делений или в их расположении могут изменить время развития органа, его морфологию или положение в зародыше. Способность отвечающей клетки продуцировать определенный белок в результате сигнала от индуцирующей ткани также может изменить характер развития (Ohno, 1970). Если это так, то можно предположить появление «мутантов развития», когда особь данного вида в каком-то отношении представляет своих эволюционных предшественников. Такие мутации были

обнаружены. У большинства птиц все пальцы включены в кости крыла и когти на концах крыла отсутствуют. Однако *Archaeopteryx*, первая из известных птиц, сохраняет на конце крыла три рептилийных коготка. У домашних кур простая менделевская доминантная мутация *Ametopodia* вызывает реверсию крыльев, снабженных на концах когтями (Cole, 1967). В гл. 18 мы обсудим мутации у мух, вызывающие изменения характера сегментации по типу сегментации у других членистоногих.

У иглокожих, таких, как морская звезда, закладка пятилучевой симметрии органов и «рук» происходит в результате взаимодействия гидроцеля с покрывающим его эпидермисом (Czihak, 1971). Гидроцель — часть полости тела, развивающаяся в гидроваскулярную систему, — образует пять выпячиваний, каждое из которых индуцирует формирование руки (или, у морских ежей, амбулакральной области) (рис. 16.9). Если разные виды морских ежей сохраняют пятилучевую симметрию, то морские звезды оказываются более изобретательными. Гидроцель шестилучевой морской звезды *Leptasterias hexactis* образует сначала пять выпячиваний, а чуть позже и шестое. Сходным образом, девять карманов гидроцеля обуславливают пространственную организацию у видов девятилучевых звезд (Gemmill, 1912). У слепых пещерных саламандр не происходит

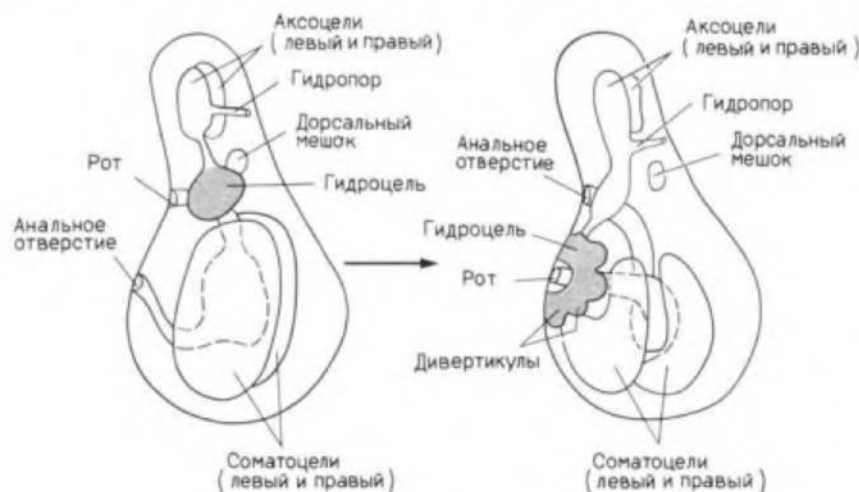


Рис. 16.9. Развитие гидроцеля (обозначен серым цветом) у обобщенной личинки иглокожих. Число «рук» у взрослого организма зависит от того, сколько дивертикулов образуется в гидроцеле (в данном случае пять). (По Ubaghs, 1967.)

индукции хрусталика. У одних видов этих саламандр мезенхимные клетки слишком рано мигрируют к месту формирования глаза, изолируя глазной бокал от головной эктодермы, тогда как у других видов клетки глазного пузыря проходят меньше делений, в результате чего он не может приблизиться к эктодерме. В любом случае индукция предотвращается (Schlapp, 1892; Cahn, 1959). Таким образом, различия в индукции могут создавать различия между видами или даже между классами животных.

Провозглашая создание «механики развития»,

Ру (Roux, 1894) постулировал, что следует различать *онтогенетическую* и *филогенетическую механику развития*. Далее он заметил, что исследования в области механики развития зародышей (онтогенетическая ветвь) должны были бы прогрессировать быстрее филогенетических исследований. «но благодаря существованию тесных причинных связей между обеими, многие из следствий, выведенных при изучении онтогенеза, проливают свет на филогенетические процессы». Теперь мы убедились в том, что различия в индукции могут создавать различия между видами и даже классами животных.

Формирование паренхиматозных органов

Эпителио-мезенхимные взаимодействия можно также наблюдать при развитии органов, формирующих протоки, таких, как почки, печень, легкие, молочные железы и поджелудочная железа.

ПОЧКА И ЛЕГКОЕ. Почки развиваются из двух мезодермальных компонентов (рис. 16.10). Первый компонент — это эпителий **зачатка мочеточника**, происходящего из вольфова канала. При вхождении этого зачатка в область **метанефрогенной** (образующей почки) **мезенхимы** обе ткани взаимодействуют и изменяют друг друга. Метанефрогенная мезенхима заставляет зачаток мочеточника удлиниться и ветвиться. Образующиеся ветви вызывают конденсацию мезенхимы вблизи своих верхушек; эта мезенхима сначала формирует S-образный тяж, затем в нем появляется полость, и он превращается в трубку. Между зачатком мочеточника и новообразованной трубкой устанавливается связь, что позволяет беспрепятственно проходить по ним различным веществам. Трубочки (каналы) на конце зачатка мочеточника формируют нефрон функциони-

рующей почки, а ветвящийся зачаток мочеточника дает начало почечным собирающим протокам и мочеточнику, выводящему из почки мочу.

Клиффорду Гробштейну (Grobstein, 1955, 1956) удалось наблюдать эту **реципрокную индукцию** в условиях культивирования вне организма. Отделяя зачаток мочеточника от мезенхимы, он культивировал их либо по отдельности, либо вместе. Без мезенхимы зачаток мочеточника не ветвился. Мезенхима без зачатка мочеточника не конденсировалась с образованием канальцев. Но если эти ткани совмещали, то зачаток мочеточника рос и ветвился, а в мезенхиме формировались канальцы (рис. 16.11).

Итак, зачаток мочеточника ветвится только после стимуляции метанефрогенной мезенхимой. Это заключение подтверждается реципрокными трансплантациями в культуре. Если слюнный эпителий совместить со слюнной мезенхимой, то он будет ветвиться, так же как и эпителий зачатка мочеточника ветвится в комбинации с мезенхимой почки. Однако ветвления не наблюдается в случаях комбинации эпителия зачатка мочеточника с мезенхимой слюнной железы или эпителия слюнной железы

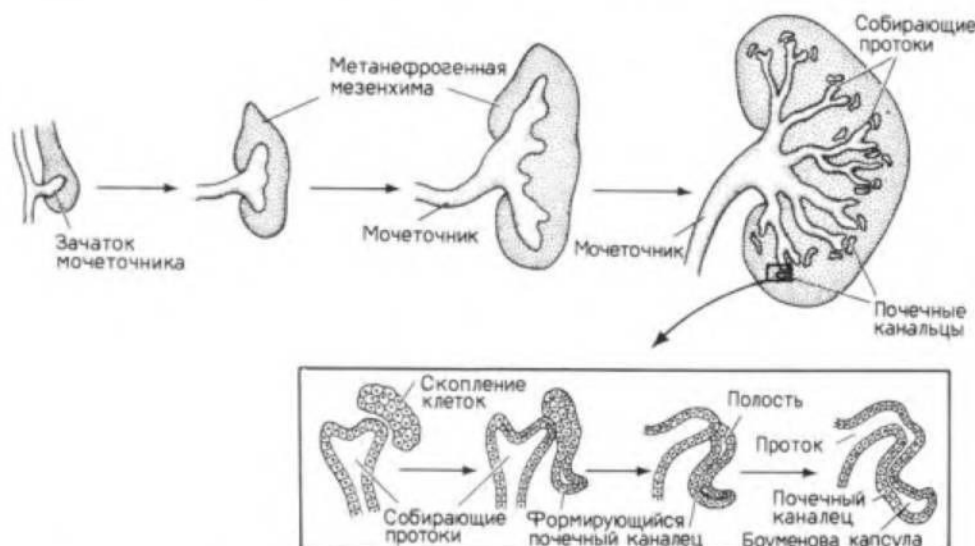


Рис. 16.10. Реципрокная индукция при развитии почки у млекопитающих. По мере того как зачаток мочеточника входит в метанефрогенную мезенхиму, мезенхима индуцирует его ветвление. На верхушках ветвей эпителий индуцирует мезенхиму к агрегации и формированию в агрегатах полостей, в результате чего образуются почечные канальцы. (По Wessells, 1977.)

с мезенхимой почки (Bishop-Calame, 1966). Таким образом, эпителиальный морфогенез при развитии почки зависит не только от наличия мезенхимных клеток, но и от того, что эта мезенхима обладает региональной специфичностью.

Механизм органогенеза почки

Одно дело сказать, что зачаток мочеточника индуцирует метанефрогенную мезенхиму к превращению в эпителий и нефроны. Другое дело понять, как осуществляются эти процессы. Полагают, что как и развитие хрусталика под действием глазного пузыря, индукция зачатком мочеточника представляет собой лишь конечный этап в цепи событий, шаг, служащий триггером каскада реакций в компетентной мезенхиме. Метанефрогенная мезенхима не может дать никакой другой ткани, кроме почечных канальцев (если она индуцирована) или почечных клеток стромы (если она не индуцирована). Основываясь на результатах своих экспериментов по индукции мезонефроса у куриного зародыша, Этеридж (Etheridge, 1968) приходит к заключению, что эта детерминация является результатом взаимодействия с энтодермой в раннем развитии.

Какова же программа событий, происходящих в индуцированной мезенхиме? Превращение мезенхимных клеток в эпителий — не столь необычное явление при органогенезе; оно наблюдается и при развитии гонад (когда мезенхима гонады формирует половые тяжи), и при развитии мезотелия (который образуется из мезенхимных клеток, выстилающих целом). Как уже обсуждалось в гл. 15, эти изменения предполагают существенную перестройку внеклеточного матрикса, и в самом деле зачаток мочеточника стимулирует кардинальные изменения внеклеточного матрикса, образуемого клетками метанефрогенной мезенхимы. Если неиндуцированная мезенхима секретирует внеклеточный матрикс, состоящий преимущественно из фибронектина и коллагена типов I и III, то после индукции эти белки исчезают и замещаются базальной пластинкой, состоящей из ламинина и коллагена типа IV. Цитоскелет, типич-



Рис. 16.11. Индукция образования почки, наблюдаемая *in vitro*. 11-дневный зачаток метанефроса мыши, в состав которого входят зачаток мочеточника и метанефрогенная мезенхима, находился в условиях культивирования 8 сут. За это время происходит ветвление зачатка мочеточника с образованием собирающих протоков, и конденсация мезенхимы в верхушках ветвей с образованием почечных канальцев. (Из Grobstein 1955; фотография с любезного разрешения С. Grobstein.)

ный для мезенхимных клеток, заменяется на цитоскелет, характерный для эпителия (Ekblom et al., 1983; Lehtonen et al., 1985). Таким образом рыхло лежащие клетки мезенхимы интегрируются в поляризованный эпителий на базальной пластинке.

Однако еще до этих событий только что индуцированная метанефрогенная мезенхима синтезирует мембранный протеогликан синдекан (Vainio et al., 1989a). Впервые этот поверхностный протеогликан обнаруживается вокруг мезенхимных клеток, окружающих зачаток мочеточника при вхождении его в область мезенхимы. К появлению первого ответа вся мезенхима вокруг веточки дает положительное окрашивание на синдекан, при этом наиболее интенсивно окрашиваются клеточные слои вблизи зачатка мочеточника. С помощью индукторов от разных видов и видоспецифических антител к синдекану было показано, что синдекан действительно синтезируется мезенхимными клетками. Синдекан играет важную роль в пространственной

организации разных типов эпителия (Repraeger, Bernfield, 1985; Vainio et al., 1989b), и его синтез может играть существенную роль в агрегации мезенхимных клеток. Если синтез протеогликана в зачатке эмбриональной почки ингибировать, то клетки мезенхимы не сформируют эпителиальных трубочек, а мочеточник не будет ветвиться при вращении в область мезенхимы (Lelongt et al., 1988).

Хотя предположения о том, что зачаток мочеточника инициирует каскад этих изменений путем активации и репрессии специфических генов в мезенхиме, высказывались давно, мы до сих пор не знаем, какое индуцирующее вещество синтезирует зачаток мочеточника, каковы рецепторы этого вещества в отвечающей мезенхиме или гены, активируемые этим взаимодействием. В последнее время, однако, идентифицирован ген, служащий хорошим кандидатом для инициации событий, превращающих мезенхимные клетки в эпителий. Было показано, что этот ген — *WT2-1* — отсутствует или мутирует у больных

А. Культивируемый отдельно

Эпителий зачатка легкого → Дифференцировки не происходит

Б. Культивируемые вместе

Эпителий зачатка легкого + Мезенхима желудка → Желудочные железы

В. Культивируемые вместе

Эпителий зачатка легкого + Мезенхима кишки → Ворсинки

Г. Культивируемые вместе

Эпителий зачатка легкого + Печеночная мезенхима → Печеночные пластинки

Д. Культивируемые вместе

Эпителий зачатка легкого + Мезенхима бронхов → Зачатки бронхов, ветвление

Е. Культивируемые вместе

Эпителий зачатка легкого + Мезенхима трахеи → Коллаген, Ветвления не происходит

Рис. 16.12. Дифференцировка презумптивного эпителия легкого в зависимости от источника мезенхимы. А. Эпителий легкого не дифференцируется при культивировании без мезенхимных клеток. Б–Е. Зависимая от мезенхимы дифференцировка эпителия. (По Deucher, 1975.)

с опухолью Вилма (рака эмбриональных клеток почки). Кодированный им белок обладает последовательностью, характерной для фактора транскрипции с доменом «цинковый палец», а гибридизация *in situ* показала, что этот ген в норме экспрессируется в мезенхиме почек, гонад и мезотелия. В случае почки человека мРНК *WT2-1* не экспрессируется ни в зачатке мочеточника, ни в неиндуцированной мезенхиме. Однако она легко выявляется в конденсирующихся аператах и в S-образном эпителии (Pritchard-Jones et al., 1990; van Heyningen et al., 1990).

Другие эпителиальные структуры не ограничены в своем ответе на стимул так жестко, как зачаток мочеточника. Например, эпителий, выстилающий энтодермальные трубки, будет развиваться по-разному в зависимости от положения. Оказывается, что развиваться по-разному заставляет эпителий каждая мезенхимная область (рис. 16.12). Подобная региональная специфичность мезенхимной индукции с наибольшей очевидностью наблюдается при формировании дыхательной системы. Дыхательный эпителий не так привередлив, как почечный или слюнный, и может отвечать на воздействие разнообразных типов мезенхимы. При развитии млекопитающих этот ответ может быть двояким. В области шен эпителий растет прямо, формируя трахею. Входя

в грудной отдел, он ветвится, образуя два бронха и затем легкие. Легочный эпителий можно изолировать на стадии, когда он только что разделился на два бронха, и культивировать правую и левую сторону при разных условиях. На рис. 16.13 представлены результаты такого эксперимента. Правый бронхиальный эпителий сохраняет свою мезенхиму, тогда как левый окружен мезенхимой трахеи (Wessells, 1970). Под действием легочной мезенхимы правый бронх пролиферирует и ветвится, а бронх слева продолжает рост без ветвления. Таким образом, дыхательный эпителий характеризуется исключительной зависимостью от среды и способен дифференцироваться в разнообразные энтодермальные структуры.

Координированная дифференцировка и морфогенез поджелудочной железы

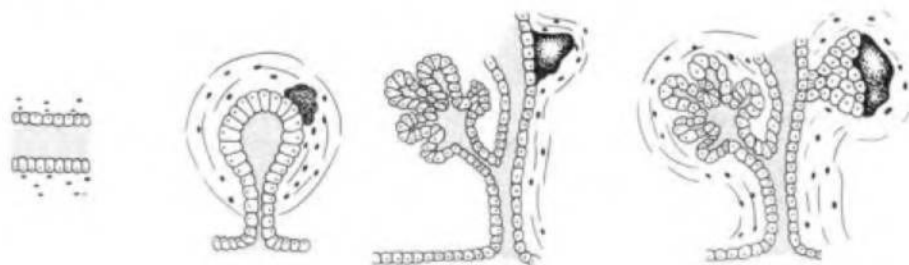
Если индукция той или иной структуры произошла, то структура эта начинает дифференцироваться. Этот процесс особенно интенсивно изучался на примере развивающейся поджелудочной железы мыши. Дорсальная поджелудочная железа мыши закладывается в виде карманообразного выпячивания энтодермального эпителия, который врастает в область панкреатической мезенхимы. Взаимодействуя с эпителием, мезенхимные клетки заставляют его формировать пальцеобразные ответвления, заканчивающиеся сферическими кластерами клеток, называемыми **ацинусами**. Этот процесс подобен тому, что наблюдается в случае слюнных и молочных желез, а ацинарные клетки вырабатывают и секретируют белки, характерные для данного органа. В поджелудочной железе большая часть ее клеток образует пищеварительные ферменты (карбоксипептидазу, липазу, трипсин), которые экспортируются через протоки поджелудочной железы в тонкий кишечник. Другие клетки панкреатического эпителия, отпочковываясь, дают начало островкам Лангерганса, две основные популяции клеток которых секретируют инсулин (бета-клетки) и глюкагон (альфа-клетки).

Было показано (Rutter et al., 1964), что до образования панкреатического дивертикула соответствующая область энтодермы не содержит ни белков, специфичных для поджелудочной железы, ни их мРНК (рис. 16.14). Первые панкреатические белки появляются сразу, как только начинает формироваться первоначальное выпячивание. Таким образом, морфогенез и дифференцировка поджелудочной железы тесно связаны. Пока поджелудочная железа претерпевает морфогенез (характеризующийся быстрыми митозами и формированием протока и ацинусов), уровень синтеза этих белков низок. По мере развития железы некоторые ацинарные



Рис. 16.13. Дифференцировка презумптивного эпителия легкого в зависимости от источника индуцирующей мезенхимы. После того как эмбриональный эпителий легкого мыши разветвился на два бронха, весь зачаток был вырезан и затем продолжал развиваться в условиях культуры. Правый бронх остался интактным, а на верхушку левого помещена мезенхима трахеи. Верхушка правого бронха образовала характерные для легкого ветви, тогда как на верхушке левого бронха ветвления не произошло. (Из Wessells, 1970; фотография с любезного разрешения N. Wessells.)

Рис. 16.14. Координированные дифференцировка и морфогенез поджелудочной железы. По мере формирования зачатка поджелудочной железы из эпителиально-мезенхимного эпителия в нем повышается синтез специфических белков. Для поддержания формирования протоков и ацинусов необходима мезенхима; содержание специфических продуктов поджелудочной железы зависит от числа клеток, выходящих из митотического цикла. Вначале, когда таких клеток мало, уровень повышается очень незначительно, но после того, как в сформированной ткани накопится достаточно неделящихся клеток, синтез специфических для поджелудочной железы белков резко возрастает. На рисунке уровень синтеза специфических белков сопоставляется с этапами образования панкреатической ткани. (По Wessells, 1977; Rutter et al., 1978.)



клетки прекращают делиться, в них дифференцируются аппарат Гольджи и гранулярный эндоплазматический ретикулум, свойственные секреторным клеткам. Как только произойдет накопление таких клеток, их дальнейшая дифференцировка перестает зависеть от мезенхимы, они продолжают накапливать белки, специфичные для дифференцированных клеток данного типа (Spooner et al., 1977). Итак, при нормальных условиях два независимых процесса — морфогенез и цитодифференцировка — при формировании органа координированы.

Природа ближнего взаимодействия при эпителио-мезенхимной индукции

«Ближняя» индукция происходит в том случае, когда индуцирующая ткань располагается вблизи компетентной отвечающей ткани. Необходимо ли для таких клеток физический контакт или они могут взаимодействовать на небольшом расстоянии? Принято выделять три типа взаимодействий: контакт между клетками, контакт между клеткой и матриксом и диффузия растворимых сигналов (рис. 16.15) (Grobstein, 1955; Saxén et al., 1976). В некоторых случаях, по-видимому, необходим контакт между клетками. Так, индукция почечных канальцев зачатком мочеточника зависит от их непосредственного контакта. Эта зависимость была продемонстрирована Лехтоненом и Саксеном (Lehtonen, 1975; Lehto-



Рис. 16.15. Три возможных способа индукционных взаимодействий. (По Grobstein, 1956.)



Рис. 16.16. Трансфильтровая индукция почечных канальцев. А. Метанефрогенная мезенхима расположена над фильтром, а индуктор (в данном случае – спинной мозг мыши, имитирующий действие зачатка мочеточника) помещен снизу. В мезенхиме сформировались почечные канальцы. Б. Электронная микрофотография, на которой виден клеточный контакт (обозначен стрелкой) через пору фильтра, «разделяющего» метанефрогенную мезенхиму и индуцирующий ее спинной мозг. (Фотографии с любезного разрешения L. Saxén.)

nen et al., 1975). Модифицировав метод Гробстейна, заключавшийся в выращивании индуктора и мезенхимы на разных сторонах пористого фильтра, эти авторы обнаружили, что формирование канальцев в мезенхиме происходит в том случае, если на другой стороне фильтра культивируют индуцирующую ткань (рис. 16.16, А). Когда были приготовлены гистологические срезы через эту конструкцию, оказалось, что небольшие отростки индуцирующей ткани проросли через поры фильтра и пришли в контакт с мезенхимой (рис. 16.16, Б). Путем изменения толщины фильтра им удалось показать зависимость индукции от межклеточных контактов. Сходная ситуация наблюдается в природе. У мышей, гомозиготных по мутации *Danforth's short tail*, почки не развиваются. Зачаток мочеточника у них подрастает на расстояние клеточного диаметра до мезенхимы и останавливается. В отсутствие контакта индукции не происходит (Gluecksohn-Schoenhei-

mer, 1943). При индукции зубов (Slavkin, Bringas, 1976) и подчелюстной слюнной железы (Culter, Chaudhry, 1973) контакты между мезенхимными и эпителиальными клетками можно увидеть с помощью электронного микроскопа (рис. 16.17).

Данные по другим органам свидетельствуют о том, что внеклеточный матрикс клеток одного типа вызывает дифференцировку другого набора клеток. Как уже упоминалось, дифференцировка эпителия роговицы зависит от индукционного влияния капсулы хрусталика (Hay, Revel, 1969). В отличие от индукции почки, которая, очевидно, требует живой ткани индуктора, мертвая капсула хрусталика также оказывает свое действие, поскольку на ней присутствует коллаген: и вообще практически любой источник коллагена будет индуцировать клетки эпителия роговицы к синтезу своего матрикса (Hay, Dodson, 1973; Meier, Hay, 1974). Если между капсулой хрусталика и эпителием роговицы поместить

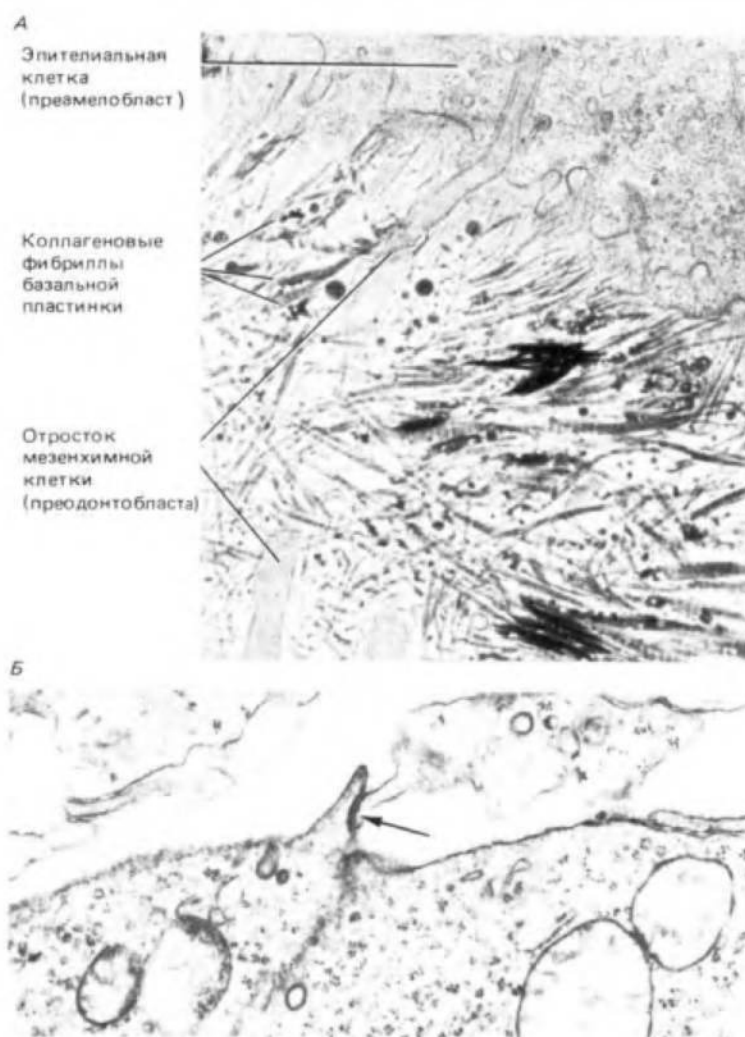


Рис. 16.17. Контакт между эпителиальной и мезенхимной клетками во время индукции. А. Электронная микрофотография контакта эпителиальной клетки (преамелобласта) и мезенхимной клетки (преодонтобласта) при развитии зуба. Отростки мезенхимных клеток проходят через внеклеточный матрикс, чтобы установить контакт с нижней поверхностью эпителиальных клеток. Б. Электронная микрофотография контакта (обозначен стрелкой) между эпителием и мезенхимой в слюнной железе 16-дневной крысы. (А – из Slavkin, Bringas, 1976; фотография с любезного разрешения Н. С. Slavkin; Б – с любезного разрешения L. E. Culter.)

фильтр, эпителиальные клетки посылают через поры фильтра отростки, устанавливая контакт с капсулой (Meier, Nau, 1975). Следовательно, поверхность эпителиальных клеток роговицы получает от богатой коллагеном капсулы хрусталика какие-то инструкции.

Кроме того, внеклеточный матрикс может служить источником позиционной информации при вторичной индукции. У 5–6-дневного куриного зародыша можно наблюдать концентрацию клеток дермы в определенных локусах, которые соответствуют местам закладки перьев. Эти точки конденсации, или скопления, дермальных клеток строго упорядочены. Они возникают в виде отчетливых рядов (трактов), причем каждый **зачаток пера** появляется почти одновременно с остальными. В соседних рядах локусы дермальной конденсации располагаются в шахматном порядке (рис. 16.18). В этих точках – и только в них – произойдет закладка перьев в резуль-

тате взаимодействия данных дермальных клеток с лежащей выше эктодермой. Было показано (Stuart et al., 1972), что дермальные конденсации образуются при миграции мезенхимных клеток вдоль преформированного коллагенового матрикса (рис. 16.18, В). После обработки кожи спины коллагеназой нарушался гексагональный характер отложения коллагена и подавлялась конденсация дермальных клеток.

Гексагональный рисунок отсутствует на коже зародышей, несущих мутацию *scaleless*; такие зародыши не способны образовывать конденсации (Goetinck, Sekellick, 1972). Кожа мутантов *scaleless* производит достаточное количество коллагена, но специфической гексагональной решетки не наблюдается. По-видимому, причиной мутации служит какой-то эктодермальный компонент кожи, поскольку и решетка, и зачатки перьев формируются, если нормальный эпидермис совместить с дермой

мутанта, но ни решетка, ни зачатки перьев не появляются, если с нормальной дермой скомбинировать мутантный эпидермис. В более поздних исследованиях было показано (Mauger et al., 1982, 1983), что в ходе нормального развития кожи коллагены типов I и III и фибронектин равномерно распределены в месте соединения дермы с эпидермисом. Развитие зачатков перьев или чешуек начинается там, где исчезает коллаген. В промежутках между зачатками количество коллагена, напротив, увеличивается. Вскоре после этого возникают точечные очаги экспрессии адгезионных молекул N-MKA, располагающиеся непосредственно под будущими зачатками перьев. Полагают (Chuong, Edelman, 1985), что белок N-MKA вызывает специфическую агрегацию клеток под эпидермисом и объединяет их в отдельные структурные единицы (гл. 15). Можно заключить, таким образом, что в процессе нормального развития кожи эктодерма передает ин-

формацию, позволяющую дермальным клеткам регулировать характер синтеза коллагена и фибронектина, что в результате обуславливает распределение коллагеновых волокон, служащих субстратом для мигрирующих клеток. Итак, эктодерма влияет на местоположение мезенхимы, которая конденсируется в определенных местах и индуцирует лежащую выше эктодерму к образованию перьев. Следовательно, несмотря на то что механизм, лежащий в основе пространственной организации этого процесса, еще не понятен полностью, очевидно, что внеклеточный матрикс играет очень важную роль в детерминации сайтов вторичной индукции в коже.

Существуют индукционные системы, не требующие контакта составляющих эти системы компонентов. Например, при индукции нервной трубки клетками хордомезодермы в расположенной над ними эктодерме между индуцирующим и отвечающим на индукцию наборами клеток контакты не

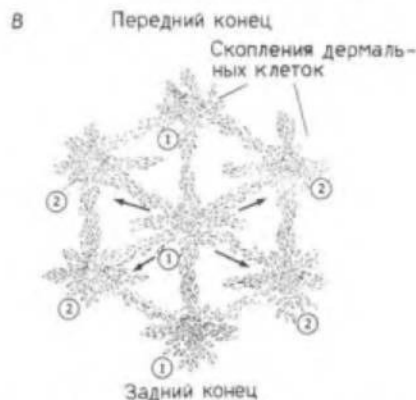
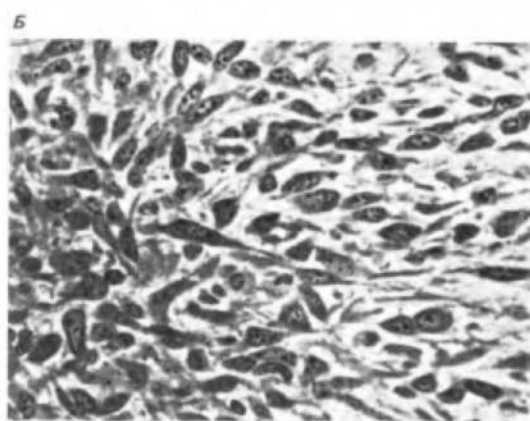
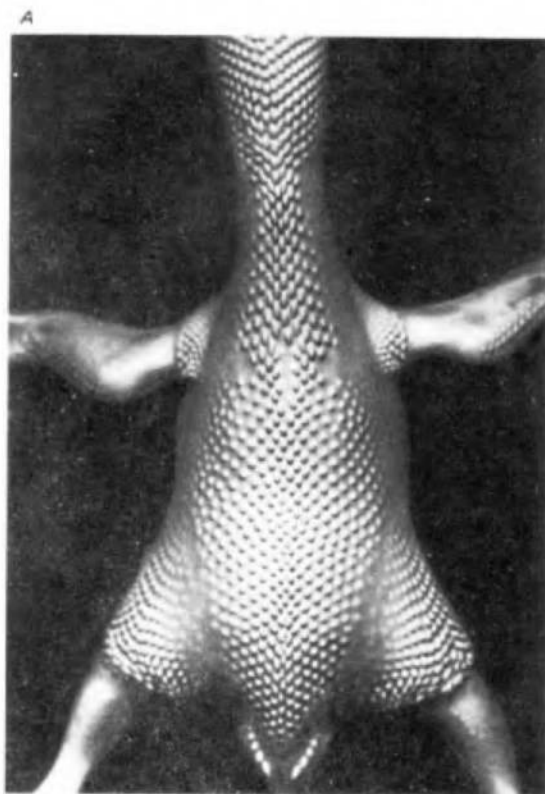


Рис. 16.18. Расположение птерилий у куриного зародыша. *А*. Птерилии на спине 9-дневного куриного зародыша. Обратите внимание на то, что зачатки перьев располагаются в шахматном порядке. *Б*. Характер расположения скоплений дермальных клеток, дающих начало зачаткам перьев на спине. *Б*. Слева видна конденсация мезенхимных клеток кожи; остальные, не агрегировавшие клетки ориентированы вдоль оси, соединяющей данное скопление клеток с соседним. *В*. Гексагональный характер агрегации дермальных клеток и их ориентировки: 1 – первичные ряды дермальных скоплений (папилл) и клетки, выстроившиеся вдоль соединяющих их осей; 2 – вторичные ряды папилл и их соединения. (*А* – с любезного разрешения Р. Sengal. *Б* – из Wessells, Evans, 1968; фотография с любезного разрешения N. Wessells. *В* – из Saunders, 1980.)

обнаружены; эта индукция может происходить при наличии фильтра, разделяющего клетки обоих компонентов (Toivonen, 1979).

Сходная ситуация может иметь место и при развитии поджелудочной железы. Исследователи из лаборатории Раттера (Rutter et al., 1978) выделили из различных мезенхимных тканей гликопротеин, способный инициировать дифференцировку панкреатических эпителиальных клеток. Этот **мезенхимный фактор** может связываться с сепарозными (пластиковыми) бусинами. Фрагменты панкреатического эпителия, прикрепившиеся своими базальными концами к бусинам, адсорбировавшим мезенхимный фактор, начинают синтезировать ДНК и образовывать содержащие фермент секреторные гранулы, характерные для дифференцированных клеток поджелудочной железы. Такие же фрагменты ткани, прикрепившиеся к непокрытым бусинам, гранул не образуют. Указанное действие является специфическим именно для данного фактора, и другие белки дифференцировки не индуцируют. На рис. 16.19 представлена прикрепившаяся к бусине, покрытой мезенхимным фактором, эпителиальная клетка, которая делится и дифференцируется. Отсюда следует, что в данном случае морфогенез не служит необходимым условием клеточной дифференцировки. Клетки будут образовывать свой специфический продукт независимо от того, ветвится орган или нет. Этот фактор, вероятно, представляет собой мембранный белок, однако можно предполо-

жить и его утрату с поверхности клеток при нормальном обмене мембранных компонентов. Поэтому естественно было бы полагать, что индукция этого типа происходит либо в результате контакта мембран клеток, либо в результате взаимодействия клеток с индуцирующим продуктом, который отделился от клеточных поверхностей их соседей. Но что действительно важно отметить, — так это тот факт, что процесс индукции опосредован на уровне клеточной поверхности и что молекулы индуктора не удаляются далеко от источника своего происхождения.

Механизм ветвления при формировании паренхиматозных органов

Как видно на примере почки и многих других органов, мезенхима может взаимодействовать с эпителиальной трубкой, вызывая ее ветвление. Ветвление происходит в результате того, что эпителиальные выросты разделяются щелями, оставляющими с каждой стороны от щели дольки, которые в свою очередь растут и ветвятся. Ветвление эпителиальных зачатков зависит от наличия мезенхимы. В некоторых случаях, как, например, при взаимодействии дыхательного эпителия с мезенхимой различных типов, взаимодействие является индуктивным. В большинстве же случаев эти взаимодействия оказываются чисто разрешающими. Зачатки готовы к ветвлению и формированию ацинусов, но они нуждаются в поддержке мезенхимы. Сейчас принято считать, что мезенхима вызывает формирование щели и ветвление путем расщепления дольки и избирательного переваривания части базальной пластинки эпителиальной ткани.

Контроль над формированием щели выполняют, по-видимому, молекулы коллагена. Коллагеновые волокна продуцируются мезенхимными клетками, но аккумулируются они только в пределах щелей долек (рис. 16.20) (Grobstein, Cohen, 1965; Wessells, Cohen, 1968). Более того, степень ветвления можно искусственно регулировать путем сохранения или удаления молекул коллагена (Nakanishi et al., 1986a). На рис. 16.21 представлено ветвление 12-дневного зачатка подчелюстной слюнной железы в условиях, предотвращающих разрушение коллагеновых фибрилл (в среду добавлен ингибитор коллагеназы) или ускоряющих их разрушение (в среду добавлена экзогенная коллагеназа). Без коллагена не образуются щели, однако если эндогенная коллагеназа не способна удалить избыток коллагена, то появляются сверхчисленные щели.

Механизм, посредством которого коллаген инициирует это ветвление, до сих пор не ясен. Некоторые авторы (Nakanishi et al., 1986b) полагают, что

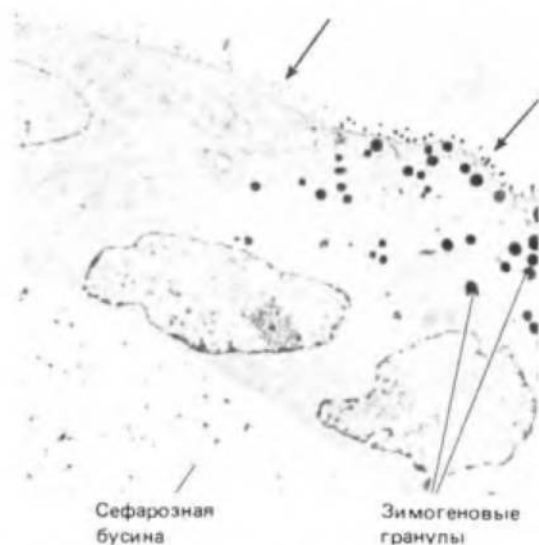


Рис. 16.19. Адсорбция и дифференцировка клеток поджелудочной железы на сепарозных бусинах, покрытых мезенхимным фактором. Видны зимогеновые гранулы и микроворсинки (указаны стрелками), характерные для дифференцированных клеток поджелудочной железы. (Levine et al., 1973; фотография с любезного разрешения W.J. Rutter.)

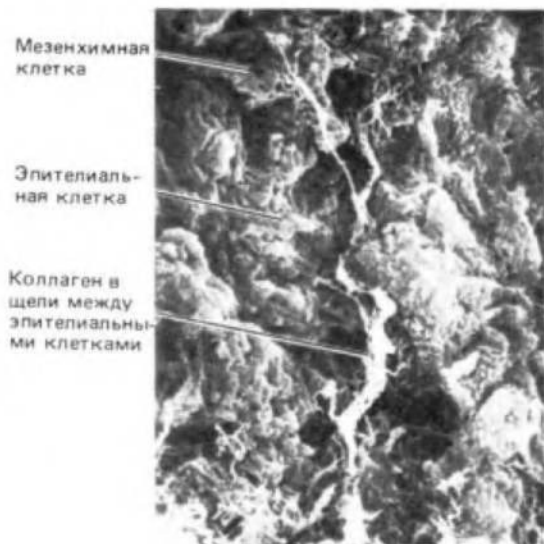


Рис. 16.20. На микрофотографии, полученной с помощью сканирующего электронного микроскопа, видна аккумуляция коллагеновых волокон в ранней щели слюнной железы 12-дневной мыши. (Из Nakanishi et al., 1986b; фотография с любезного разрешения Y. Nakanishi.)

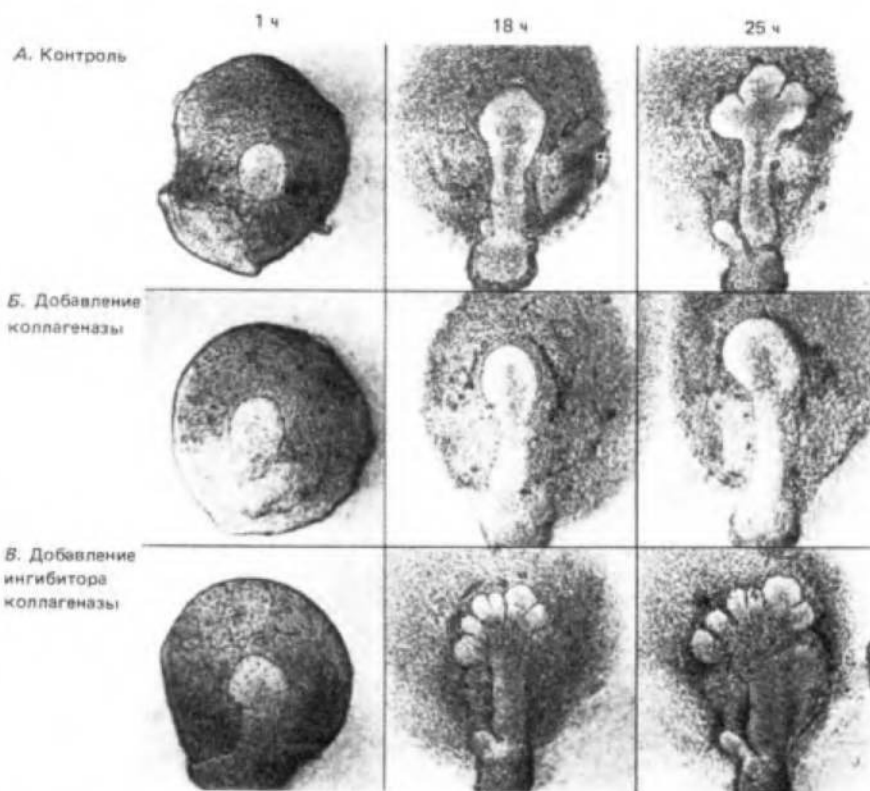


Рис. 16.21. Участие коллагена мезенхимы в формировании эпителиальной щели. Зачатки слюнной железы 12-дневной мыши помещали в культуральную среду и регистрировали их состояние через 1, 18 и 25 ч. А. Нормальное развитие, ведущее к формированию трех основных долей. Б. При добавлении в среду экзогенной коллагеназы (5 мкг/мл) долька растет, но не ветвится. В. Сверхчисленные ветви, которые сформировались при добавлении в среду ингибитора коллагеназы (5 мкг/мл), подавляющего активность эндогенной коллагеназы. (Из Nakanishi et al., 1986a; фотография с любезного разрешения Y. Nakanishi.)

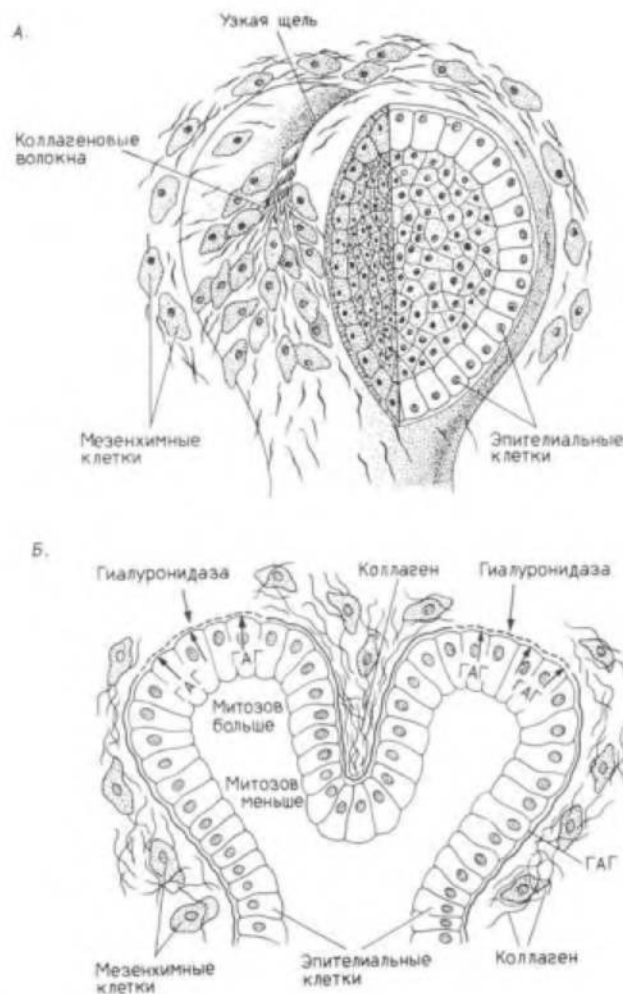


Рис. 16.22. Вероятная модель формирования щели и ветвления зачатка слюнной железы мыши. А. Под действием натяжения, создаваемого клетками мезенхимы, пучок коллагеновых фибрилл (изображен в виде скрученной напоминающей канат структуры) сокращается, в результате чего в дольке появляется борозда. Как показано на рис. 16.20, фибриллы протягиваются между двумя группами мезенхимных клеток. Б. Удлинение двух разделенных долек, ведущее к формированию ветвей, может быть обусловлено тем, что гликозаминогликаны (ГАГ) на верхушках долек более чувствительны к действию гиалуронидазы, не будучи экранированы коллагеновыми фибриллами. Стебелек дольки остается постоянным, тогда как интенсивные клеточные деления (стимулированные мезенхимой) на верхушках будут продвигать дольку вперед. (А — по Nakanishi et al., 1986b; Б — по Wessells, 1977.)

мезенхимные клетки при своей миграции ассоциируются с коллагеновыми волокнами и, накапливаясь на них, формируют гребешки, разделяющие щелями эпителиальные дольки. Эти щели становятся все более четкими по мере накопления мигрирующих мезенхимных клеток, пути которых деформи-

руют дольку. Первоначальное формирование щели не зависит от пролиферации эпителиальных клеток (Nakanishi et al., 1987). Коллагеновые фибриллы могут отвечать и за развитие щели в отчетливые ветви. Бернфилд и Банерджи (Bernfield, Banerjee, 1982) предположили, что действие коллагена заключается в защите базальной пластинки эпителиальных клеток от действия гиалуронидазы, секретируемой мезенхимными клетками. Они показали, что мезенхимные клетки действительно переваривают гликозаминогликаны (ГАГ) долек (Banerjee, Bernfield, 1979) и что ГАГ на концах более чувствительны, чем ГАГ в щели. Разрушение базальной пластинки могло бы обеспечить отрастание ветвей благодаря стимуляции митозов в этой области. В соответствии с этой моделью, представленной на рис. 16.22, мезенхима вызывает рост эпителия, деградацию ГАГ и откладывает коллагеновые фибриллы в щели. Эпителий синтезирует материал базальной пластинки и стимулирует синтез мезенхимного коллагена. В результате происходит дифференциальное разрушение базальной пластинки на концах лопасти, дающее возможность делящимся клеткам лопасти (доли) формировать ветви. Таким образом, взаимодействие мезенхимных клеток с внеклеточным матриксом эпителия могло бы детерминировать характер ветвления органа.

Индукция плазматических клеток

Макрофаги и хелперные Т-клетки (Т-хелперы)

Изучать процессы эмбриональной индукции чрезвычайно трудно. Количество ткани, которое можно выделить из зародыша, удручающе мало, и экстрагировать из нее определенные индуцирующие агенты до сих пор было практически невозможно. Однако процессы развития никогда не прекращаются, и в организме взрослого животного постоянно происходит дифференцировка клеток некоторых типов из стволовых. В течение последних десятилетий объектом пристального изучения стала дифференцировка синтезирующих антитела плазматических клеток взрослых позвоночных. Как уже упоминалось, плазматические клетки, синтезирующие антитела, происходят от В-лимфоцитов. Каждый В-лимфоцит производит антитела определенного типа и в качестве рецептора антигена помещает его на своей клеточной мембране. Связывание с В-лимфоцитом антигенов служит сигналом для нескольких его делений, развития в нем структур, характерных для секреторной клетки (т.е. его дифференцировки), и секреции специфических антител (гл. 10).

Но одного лишь антигена не достаточно для запуска дифференцировки. Чтобы пролиферация и дифференцировка начались, требуется присутствие

клеток двух других типов. Во-первых, необходимы **макрофаги**. Полагают, что эти клетки служат поставщиком антигенов для В-лимфоцитов. В-лимфоциты обычно не реагируют должным образом на антигены в растворе. Скорее всего в макрофагах антигены подвергаются «процессингу», а затем экспонируются на их поверхности (Mosier, 1967; Unanue, Askonas, 1968).

Во-вторых, в дифференцировке В-лимфоцитов принимают участие Т-лимфоциты. Без Т-лимфоцитов В-лимфоциты не пролиферируют и не дифференцируются даже при наличии макрофагов и анти-

генов. Индивидуумы, у которых отсутствуют Т-клетки (это может быть следствием недоразвития тимуса), лишены возможности производить антитела к большинству веществ, несмотря на обладание популяцией В-клеток. Таким образом, индукция В-клетки к превращению ее в секретирующую антиген плазматическую клетку зависит от наличия антигена, макрофага и **Т-хелпера**.

Как эти клетки, относящиеся к иным типам, взаимодействуют с В-клетками? Сравнительно недавно (Guillet et al., 1987) была предложена следующая модель (рис. 16.23). Прежде всего макрофаги

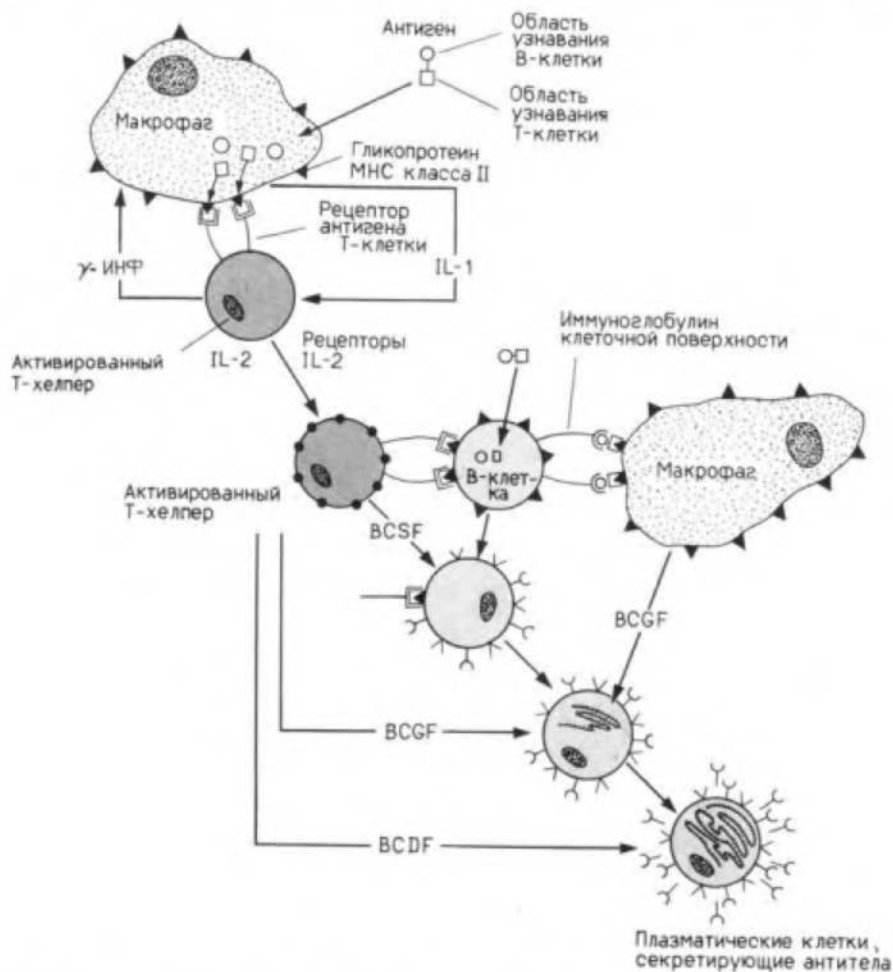


Рис. 16.23. Модель индукции дифференцировки В-клеток клетками-хелперами (индуктор) и макрофагами. Активация Т-хелперов обусловлена тем, что макрофаги захватывают антиген, частично переваривают его и перемещают на свою поверхность, где он остается связанным с гликопротеином МНС класса II. Т-клетки узнают антиген, связанный с макрофагом. Комбинация взаимосвязанных рецепторов антигена и продуцированного макрофагом интерлейкина 1 (IL-1) активирует Т-хелперные клетки, которые начинают синтезировать фактор роста интерлейкина 2 (IL-2), рецепторы IL-2 и стимулятор макрофагов γ -интерферон (γ ИНФ). Такие активированные Т-хелперы связываются своими рецепторами с антигеном на поверхности макрофага. Взаимодействие иммуноглобулинов клеточной поверхности активирует В-клетку, делая ее чувствительной к факторам роста В-клеток (BCGF от активированных Т-хелперов и активированных макрофагов), а также к фактору дифференцировки В-клеток (BCDF) и стимулирующему фактору (BCSF) (от хелперных Т-клеток). Вся эта последовательность событий приводит к пролиферации активированных В-клеток и их дифференцировке в плазматические клетки, синтезирующие антитела.

связывают антигены (например, бактерии) и частично их переваривают. Частично переваренные фрагменты связываются с определенными мембранными гликопротеинами (с антигенами главного комплекса тканевой совместимости класса II, или МНС – от англ. “Major Histocompatibility Complex”) и помещаются на клеточную поверхность макрофага. Затем Т-клетка узнает на поверхности макрофага определенные фрагменты антигена, связанные с гликопротеинами МНС класса II (в такой связанной форме их лучше узнают антиген-специфические рецепторы на поверхности Т-клеток). Эти рецепторы объединяются в кластеры на небольшой площади мембраны Т-клетки. В ходе этого процесса макрофаг секретирует **интерлейкин 1** (IL-1), активирующий Т-хелпер. Активированный Т-хелпер продуцирует фактор роста Т-хелперов – **интерлейкин 2** (IL-2) – и рецепторы для IL-2. (Кроме того, они выделяют γ -интерферон, вызывающий дальнейшую активацию макрофагов.) В-клетка также помещает частично переваренный антиген на свою клеточную поверхность (он связан с гликопротеинами МНС класса II) и предъявляет его активированным Т-хелперам (Lanzavecchia, 1985; Janeway et al., 1987). В то же самое время происходит связывание В-клеток со специфической частью антигена на макрофагах таким образом, что В-клетки, хелперные Т-клетки и макрофаги объединяются (рис. 16.24) (Inabar et al., 1984; Snow et al., 1983). Такое связывание В-клеток с антигеном усиливается иммуноглобулинами кле-

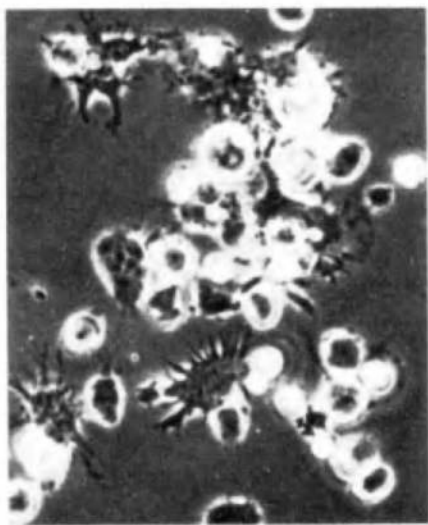


Рис. 16.24. Кластер антиген-специфических В-клеток, Т-хелперов и макрофагов из селезенки иммунизированной мыши. Крупные уплощенные клетки с многочисленными отростками – макрофаги; В- и Т-лимфоциты идентифицируются с помощью флуоресцентного мечения. (Из Inabar et al., 1984; фотография с любезного разрешения R. M. Steinman.)

точной поверхности, а их поперечное связывание макрофагами активирует В-клетки. В-клетки начинают синтезировать рецепторы к факторам роста и дифференцировки В-клеток, продуцируемым Т-клетками и макрофагами (Melchers, Andersson, 1986). В состав этих индуцирующих факторов входят **стимулирующий В-клетки фактор I** (BCSF-I), который позволяет покоящимся В-клеткам приступить к пролиферации (перейти из фазы G_0 в фазу G_1) и продуцировать больше молекул антител (Lee et al., 1986; Killar et al., 1987), и **фактор роста В-клеток II** (BCGF-II), который, как было показано (O'Garra et al., 1986), воздействует на позднюю фазу G_1 клеточного цикла. Однако эти пролиферирующие В-клетки все еще не могут секретировать антитела, пока на них не воздействуют по крайней мере два других фактора дифференцировки В-клеток (BCDF) (Howard, Paul, 1983; Numaoko, Ono, 1986).

Следовательно, Т-хелперы ответственны за индукцию В-клеток к превращению их в набор секретирующих антитела плазматических клеток. Т-хелперы индуцируют также макрофаги к синтезу нового набора пищеварительных ферментов, позволяющих им более эффективно разрушать бактерии. Если разрушить хелперные Т-клетки, то этих индукционных взаимодействий происходить не будет, и иммунной системе будет нанесен серьезный ущерб. Недавно было обнаружено, что хелперные Т-лимфоциты человека избирательно убивают **вирус иммунодефицита человека**, который связывается с дифференцировочным антигеном (гликопротеином CD4) на поверхности их клеток¹ (Klatzmann et al., 1984; Dalgleish et al., 1984). Утрата этих индукторных Т-клеток называется **синдромом приобретенного иммунодефицита** (СПИД, или AIDS, от “acquired immune deficiency syndrome”), который характеризуется неспособностью организма противостоять инфекционным микроорганизмам.

В течение беременности, однако, важно *сохранить* местный иммунодефицит в пределах матки, предотвращающий разрушение плода (как это случилось бы с трансплантатом). Плацентарный белок, подавляющий пролиферацию Т-хелперов, обсуждался в гл. 4; кроме того, матка обладает другой популяцией Т-клеток (называемых Т-супрессорами), которые продуцируют факторы, блокирующие активность IL-2 (Daya et al., 1987). Блокировать активность IL-1 способен и фактор, секретируемый почками беременных женщин (Brown et al., 1986). Можно полагать, что беременная матка использует нес-

¹ У человека эти клетки называют **хелпер-индукторными Т-клетками** по их функции в развитии. Гликопротеин CD4 в норме участвует в неспецифической адгезии клеток между хелпер-индукторными Т-клетками и В-лимфоцитами (Doyle, Strominger, 1987.)

колько механизмов, позволяющих блокировать индукцию иммунокомпетентных клеток, чтобы предотвратить реакцию отторжения развивающегося плода.

Неспецифическая адгезия лимфоцитов

Принято считать, что до того, как произойдет антигенспецифическое взаимодействие между лимфоцитами и макрофагами, эти наборы клеток должны распознать друг друга неспецифически. Другими словами, клетки сперва должны узнать друг друга как лимфоциты и макрофаги, и только после этого первоначального распознавания могут следовать антигенспецифические реакции. Образующиеся при этом кластеры макрофагов и лимфоцитов представлены на рис. 16.24. Полагают, что в основе узнавания макрофаг-лимфоцит лежит взаимодействие молекул гликопротеина LFA-1 клеточной мембраны. Этот гликопротеин относится к семейству рецепторов-интегринов и характеризуется многими общими последовательностями с рецепторами к фибронектину. Они обнаружены на В-клетках, Т-клетках и макрофагах (Springer et al., 1984). Фрагменты моноклональных антител против этого гликопротеина ингибируют адгезию Т-хелперов к макрофагам (так же, как и другие адгезионные реакции в иммунной системе), и лица с наследуемым отсутствием гликопротеина LFA-1 страдают от врожденного иммунодефицита, т.е. они не способны давать иммунный ответ на обычные микроорганизмы (Springer, 1987).

Итак, мы имеем дело с системой, где один набор клеток — Т-лимфоциты-хелперы — может индуцировать дифференцировку другой группы клеток — В-лимфоцитов. В-лимфоциты (как уже обсуждавшиеся

клетки поджелудочной железы) обладают способностью синтезировать небольшое количество дифференцировочного белка, но они его не секретируют. Их цитодифференцировка происходит после стимуляции клетками другого типа. При этом формируются комплексы Гольджи и гранулярный эндоплазматический ретикулум; начинается синтез белка и его модификация в этих структурах с последующей секрецией из клетки.

Таким образом, индукция В-клеток очень похожа на индукционные явления у зародыша, но значительно более доступна для изучения. Одно из преимуществ изучения индукции В-клеток заключается в том, что мы можем работать с клонами опухолевых клеток, которые все еще сохраняют способность отвечать на индуцирующие молекулы. Лимфокины были открыты при работе с клонами злокачественных Т-клеток, секретирующих определенные белки, и с клонами опухолевых В-клеток, не способных расти в отсутствие этих факторов. Эти опухоли представляют собой различные «замороженные» стадии дифференцировки лимфоцитов. Воспользовавшись клеточными линиями таких опухолей, исследователь может иметь в своем распоряжении большое число лимфоцитов на любой нужной стадии дифференцировки. Пока такие стадийноспецифические опухолевые клетки существуют только для лимфоцитов, но есть основания надеяться, что эта техника в будущем найдет более широкое применение (Houghton et al., 1987). При изучении индукции и идентификации молекул индуктора опухоли для биологов развития могут стать тем, чем мутанты служат генетикам (Pierce, 1985). Их использование в исследованиях иммунной системы позволило нам получить первые представления о молекулярной природе индукции.

Дополнительные сведения и гипотезы

Поперечные связи и индукция

Нам еще не известен механизм, с помощью которого одна популяция клеток индуцирует изменения в другой. Вполне вероятно, что индукция, как и оплодотворение, является «препрограммированным» ответом, который активируется каким-либо триггерным событием. Изучение активации В-лимфоцитов позволяет предположить, что таким триггером для дифференцировки плазматических клеток служат поперечные связи антител клеточной поверхности. Кроме того, более поздние исследования,

выполненные на других индуцибельных тканях, свидетельствуют о том, что агрегация рецепторных молекул клеточной поверхности может обеспечить общий путь запуска индукции.

При развитии В-клеток в плазматические клетки молекулы антител на клеточной поверхности служат рецепторами антигенов. Связав антиген с помощью рецепторов, В-клетки приступают к пролиферации и дифференцировке. Исследования, проведенные в лаборатории Джералда Эделмана (см.

обзор Edelman et al., 1974), показали, что антигенная стимуляция может быть имитирована агентами, действующими на уровне клеточной поверхности путем объединения определенных рецепторов. Антитела клеточной поверхности могут быть связаны вместе другими антителами, полученными на эти исходные поверхностные антитела. Анти-антитела вызовут агрегацию рецепторов антигенов на одной из сторон клетки наподобие шапочки («кэп») (рис. 15.19). И кэппинг, и митогенная активность зависят от способности связывать вместе рецепторы клеточной поверхности. Если антитела расщепить так, чтобы они не могли вызывать образование поперечных связей между молекулами рецепторов антигена, то они теряют способность стимулировать клетки к пролиферации и дифференцировке.

Если небольшие молекулы антигена связаны вместе линейно, то они могут непосредственно индуцировать дифференцировку В-клеток. Динцис и др. (Dintzis et al., 1976, 1982) приготовили полимеры разной длины из простых молекул динитрофенола (ДНФ). Затем эти линейные полимеры смешивали с изолированными В-лимфоцитами. В тех случаях, когда связывали вместе 12 или менее молекул ДНФ, ответа не было. Однако если полимеризовались 20 или более молекул ДНФ, то смешанные с ними В-клетки, узнающие ДНФ, начинали пролиферацию и дифференцировку. На этой основе авторы пришли к выводу, что для индукции Т-независимых В-клеток требуется определенное количество поперечных связей.

Было показано, что поперечные связи поверхностных антител служат ключевым активатором их дальнейшей дифференцировки. Образовав поперечные связи между молекулами поверхностных антител, В-клетки экспрессируют набор рецепторов для растворимых лимфокинов, секретируемых Т-хелперами. Они приобретают способность отвечать на продуцируемый Т-клетками интерлейкин, в результате чего происходит их деление и дифференцировка в секретирующие антитела плазматические клетки (Yaffe, Finkelman, 1983).

Подобное перераспределение молекул на клеточной поверхности может иметь существенное значение для дифференцировки. В гл. 3 уже говорилось о том, как поляризация компонентов мембраны на одной стороне клетки приводит к компактизации. В некоторых работах (Chow, Poo, 1982) были получены сходные результаты: при культивировании эмбриональных мышечных клеток *Xenopus* резко изменяется распределение их рецепторов к лектину соевых бобов. Сначала эти рецепторы случайно распределены на клеточной мембране, но при слипании клеток происходит аккумуляция этих гликопротеинов в месте контакта клеток друг с другом (рис. 16.25).

Известно, что поперечные связи рецепторов клеточной поверхности опосредуют изменения двумя основными способами. Один заключается в активации ферментов клеточной поверхности, изменяющей внутреннюю биохимию клетки. Такие изменения наблюдаются при инициации секреции гистамина тучными клетками во время аллергической атаки. Гранулы гистамина располагаются в тучных клетках непосредственно под поверхностной мембраной. На поверхности тучных клеток локализируются рецепторы к иммуноглобулину Е-типу антител, характерному для аллергических реакций. IgE связан со специфическими рецепторами на поверхности тучной клетки, где он может соединиться с веществом, вызывающим аллергию (аллергеном). Как показано на рис. 16.26, аллерген обуславливает образование поперечных связей между двумя или более молекулами IgE, в результате чего рецепторы объединяются. После этого – и только после этого – происходит выделение гистамина. Полагают, что образование поперечных связей активирует связанные с мембраной метилтрансферазы, которые изменяют липидную структуру мембраны путем метилирования некоторых фосфолипидов (Ishizaka et al., 1980). Это изменение в строении мембраны обуславливает поток ионов кальция в клетку. Гистаминвысвобождающий аппарат находится в состоянии готовности, и для его активации нужны только ионы кальция. Итак, образование поперечных связей запускает

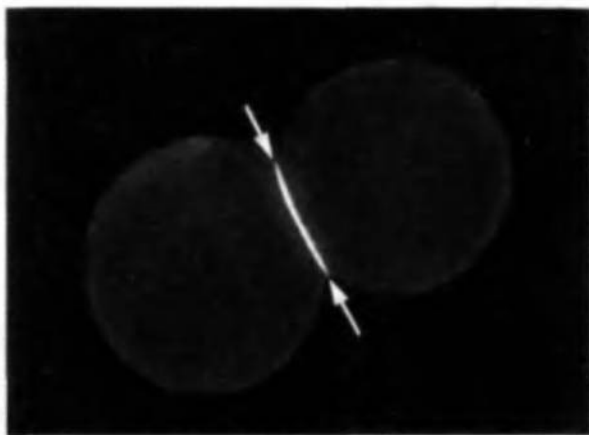


Рис. 16.25. Перераспределение мембранных молекул, зависящее от взаимодействий между клетками. Лектин соевых бобов, меченный флуоресцентной меткой, распознает набор гликопротеинов клеточной поверхности, содержащих экспонированную галактозу N-апетилгалактозаминных сахаров. Сначала эти гликопротеины были случайно распределены по поверхности эмбриональных мышечных клеток. После соединения клеток друг с другом эти белки сконцентрировались в областях межклеточного контакта. (Из Chow, Poo, 1982; фотография с любезного разрешения I. Chow, M. M. Poo.)

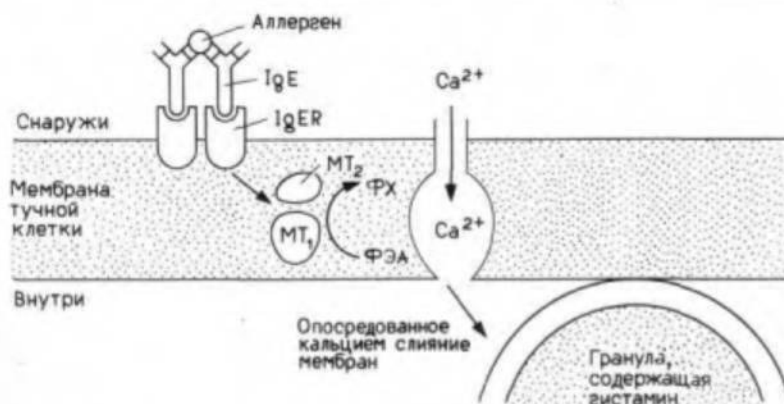


Рис. 16.26. Поперечные швы рецепторов IgE на мембране тучных клеток создают условия для высвобождения гистамина («аллергической реакции»). Молекулы IgE связываются со специфическими поверхностными рецепторами тучных клеток. Аллерген образует поперечные мостики между иммуноглобулиновыми антителами (стадия 1). Связывание этих рецепторов активирует две метилтрансферазы (MT_1 , MT_2 ; стадия 2), которые превращают фосфатидилэтаноламин (ФЭА) в фосфатидилхолин (ФХ, стадия 3). Эти изменения в строении мембраны обуславливают поступление ионов кальция (стадия 4), что приводит к слиянию гистаминсодержащих гранул с клеточной мембраной и экзоцитозу их содержимого.

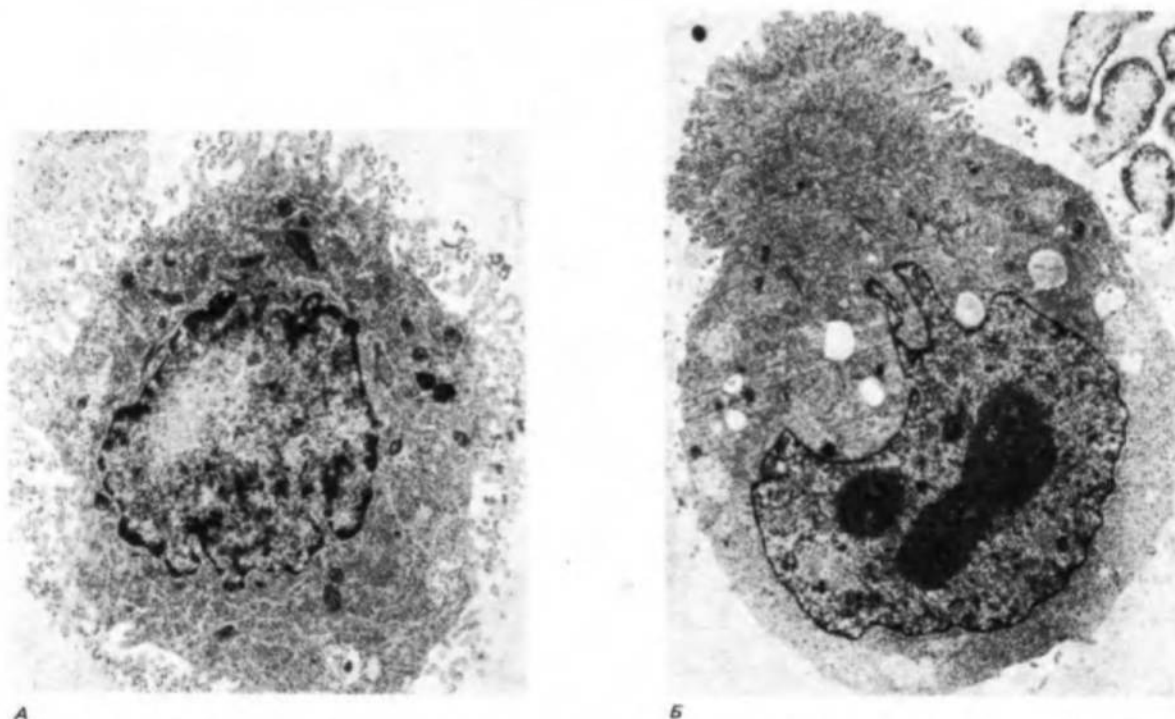
клеточные процессы, к которым уже потенциально готова цитоплазма.

Формирование поперечных связей может также влиять на клеточную дифференцировку путем перестройки цитоскелета. Связанные мостиками молекулы клеточной поверхности иногда оказываются соединенными с микротрубочками или микрофиламентами в цитоплазме. В результате реорганизация молекул клеточной поверхности отражается на реорганизации внутреннего цитоскелета. Поперечно связанные поверхностные антитела В-клеток соединены с актиновыми микрофиламентами внутри клетки (Flanagan, Koch, 1978), и процесс петчинга фибробластов может быть приостановлен с помощью препаратов, ингибирующих полимеризацию актина (Ash, Singer, 1976). Элизабет Хэй и ее коллеги показали (Sugrue, Hay, 1982; Tomasek et al., 1982), что внеклеточный матрикс капсулы хрусталика может индуцировать дифференцировку клеток роговицы у куриного зародыша путем фиксации белков клеточной поверхности в определенной конфигурации. Добавление коллагена к культивируемому на фильтре эмбриональному эпителию, из которого образуется роговица, вызывает уплотнение его клеток (путем реорганизации их цитоскелета) и инициирует изменения, сопровождающие развитие роговицы. Вполне вероятно, что клетки будущей роговицы продуцируют коллаген, положение которого фиксируется фибронектином. Последний не синтезируется эпителиальными клетками, а является продуктом мезенхимы, мигрирующей в область роговицы из нервного гребня. Следовательно, индукция роговицы может быть обусловлена секрецией мезенхимой фибронектина, который фиксирует кол-

лаген в определенной конфигурации, что в свою очередь изменяет пространственную организацию внутреннего цитоскелета. Подобные перераспределения цитоскелета могут привести к вхождению в клетку новых ионов или к реализации препрограммированного набора инструкций, которым обладает данная детерминированная клетка.

Такое программирование ядерных событий поперечными связями между молекулами клеточной поверхности наблюдается при устойчивой вирусной инфекции (Oldstone, 1982). Вирус кори, инфицировавший клетки, синтезирует гликопротеиновые антигены, которые затем встраиваются в клеточную мембрану инфицированной клетки. Антитела против этих антигенов (образующихся в организме в процессе иммунного ответа) связываются с вирусными антигенами на клеточной поверхности и служат триггером реакции кэппинга (рис. 16.27). После того как это произойдет, сигнал, каким-то образом переданный в клетку, изменит внутриклеточный синтез продуктов вирусного генома. Один из продуктов становится слишком фосфорилированным, тогда как синтез другого прекращается совсем. Большая часть других клеточных функций продолжает осуществляться как обычно. Описанный эффект специфичен для гликопротеина кори, а что касается антител к гликопротеинам клетки-хозяина, то они его не имитируют.

Итак, вполне возможно, что процесс индукции включает связывание определенных молекул с клеточной поверхностью отвечающей клетки. Этот тип молекул может «замораживать» движение некоторых мембранных молекул в плоскости мембраны



А

Б

Рис. 16.27. Явление кэппинга после реакции связанных с клеткой вирусных антигенов со специфическими антителами. Представлены электронные микрофотографии культивируемой клетки человека, инфицированной вирусом кори *in vitro* (А), и таким же образом инфицированной клетки после добавления антител против вируса кори (Б). Антитела вызывают кэппинг, связанный с мембраной вирусного антигена. (Из Oldstone, 1982; фотография с любезного разрешения M. Oldstone.)

и каким-то образом изменять внутреннюю химию клетки. В настоящее время дифференцировка лимфоцитов служит наилучшей моделью такого процес-

са, и исследователям предстоит выяснить, работают ли подобным образом другие индуцибельные системы.

Индукция на уровне одной клетки

Sevenless и *bride of sevenless*

Об эмбриональной индукции мы говорим тогда, когда взаимодействия между индуцирующими и отвечающими клетками приводят к изменению пути развития отвечающей клетки (Jacobson, Sater, 1988). Если клетка не подвергается индукционному воздействию, то она становится клеткой одного типа, если же индукционное воздействие имеет место, то она становится клеткой другого типа. До сих пор мы обсуждали индукцию на уровне тканей, а не клеток. Современные исследования в области генетики развития *Drosophila* и *Caenorhabditis* показали, что индукция может происходить на уровне клетка-клетка. В качестве наиболее яркой иллюстрации можно привести формирование фоторецепторов сетчатки в глазу *Drosophila*. В состав сетчатки вхо-

дит около 800 единиц, называемых **омматидиями** (рис. 16.28). Каждый омматидий состоит из 20 определенным образом расположенных клеток. Глаз развивается в слое плоского эпителия имагинального диска глаза личинки. Сверху и снизу этот эпителий не имеет непосредственно связанных с ним клеток, поэтому взаимодействия ограничиваются только соседними клетками. Дифференцировка случайно расположенных эпителиальных клеток в фоторецепторы сетчатки и окружающих их клеток в ткань хрусталика происходит у личинки последнего (третьего) возраста. На задней границе имагинального диска образуется борозда, которая распространяется по эпителию к переднему краю (рис. 16.29). По мере распространения борозды соседствующие с ней клетки начинают дифференцироваться в определенном порядке. Первая из развивающихся клеток становится центральным (R8) фоторецептором. (Пока неизвестно, каким образом

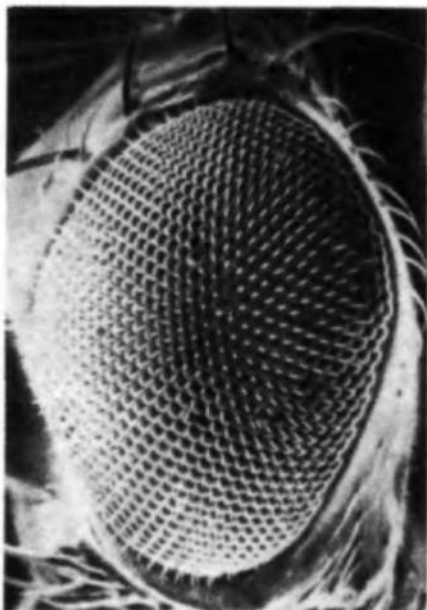
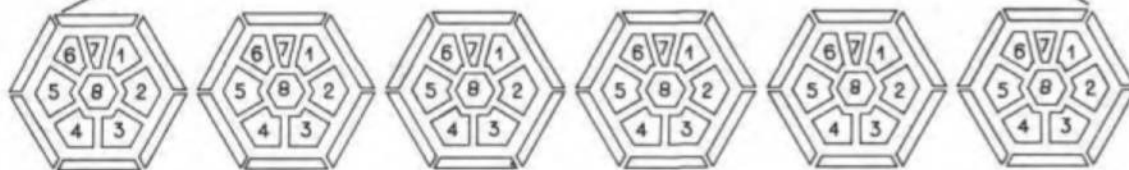
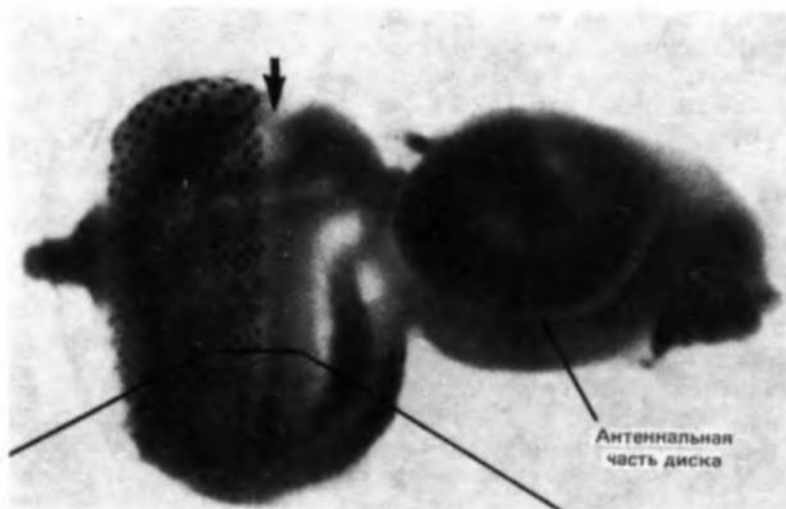


Рис. 16.28. Микрофотография сложного глаза *Drosophila*, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа. Каждая фасетка представляет собой один омматидий. От каждого омматидия отходит чувствительная щетинка. (Фотография с любезного разрешения T. Venkatesh.)



Поздняя дифференцировка (сзади от морфогенетической борозды)

Ранняя дифференцировка (появление морфогенетической борозды)

Рис. 16.29. Дифференцировка фоторецепторов в имажинальном диске глаза поздней личинки. Морфогенетическая бороздка (стрелка) пересекает диск от его заднего конца (слева) к переднему (справа). Позади бороздки в определенной последовательности дифференцируются фоторецепторы (показаны ниже). Первая дифференцирующаяся клетка – R8. Она индуцирует дифференцировку R2 и R5; каскад индукций продолжается до тех пор, пока не дифференцируется фоторецептор R7. (По Tomlinson, 1988; фотография с любезного разрешения T. Venkatesh.)

борозда инструктирует данную клетку, чтобы она стала фоторецептором R8.) Полагают, что клетка R8 индуцирует клетку над ней и клетку под ней (по отношению к прохождению борозды) к превращению их соответственно в фоторецепторы R2 и R5. Фоторецепторы R2 и R5 функционально эквивалентны, поэтому предполагается, что сигнал, направляющийся от R8 к этим клеткам, один и тот же (Tomlinson, Ready, 1987). Сигналы от этих клеток индуцируют еще четыре соседние клетки к превращению в фоторецепторы R3, R4 и затем R1 и R6. Последним появляется фоторецептор R7. Клетки, располагающиеся вокруг фоторецепторов, становятся клетками хрусталика. Детерминация хрусталика является результатом «невыполнения условий», т.е. результатом отсутствия индукции.

Обнаружена серия мутаций, блокирующая некоторые из этапов этого индукционного каскада. Так, мутация *rough (ro)* блокирует индукцию фоторецепторов R3 и R4. Мутация *sevenless (sev)* и мутация *bride of sevenless (boss)* препятствуют дифференцировке клетки R7. (Она становится хрусталиковой.) Анализ этих мутаций показал, что они связаны с процессом индукции. Ген *sevenless* необходим самой клетке R7. Если создать мозаичный зародыш так, что одни клетки глаза принадлежат дикому типу, а другие гомозиготны по мутации *sevenless*, то фоторецептор R7 развивается лишь в том случае, когда клетка-предшественница R7 имеет аллель *sevenless* дикого типа (Basler, Hafen, 1989; Bowtell et al., 1989). С помощью антител к этому белку было обнаружено, что он локализуется в плазматической мембране, а последовательность гена *sevenless* свидетельствует о том, что это трансмембранный белок с тирозинкиназным сайтом в цитоплазматическом домене (Hafen et al., 1987; Banerjee et al., 1987). Указанные признаки дают некоторое представление о функции данного белка: вероятно, он служит рецептором некоего сигнала.

Этот сигнал, вынуждающий предшественника R7 дифференцироваться в фоторецептор R7, поступает прямо или косвенно от белка, кодируемого аллелем дикого типа *bride of sevenless*. Мухи, гомозиготные по мутации *boss*, также не имеют фоторецепторов R7. Изучение генетических мозаиков, у которых некоторые клетки имажинального диска относятся к дикому типу, а другие гомозиготны по мутации *boss*, показали, что ген *boss* дикого типа для возникновения фоторецептора R7 не нужен. Этот фоторецептор будет дифференцироваться лишь при условии, что ген *boss* будет экспрессироваться в клетке R8. Таким образом, ген *bride of sevenless* кодирует некий белок, присутствие которого в клетке R8 необходимо для дифференцировки клетки R7. Сигнал, исходящий от белка *boss*, вероятно, передается на уровне клеточного контакта. Ген *boss*

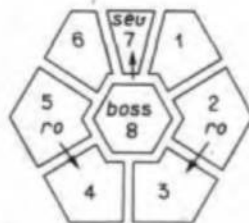


Рис. 16.30. Перечень генов, о которых известно, что они участвуют в индукции фоторецепторов у *Drosophila*. Для того чтобы за дифференцировкой фоторецепторов R8, R2 и R5 последовала дифференцировка других фоторецепторов, и в R2, и в R5 должен присутствовать ген *rough (ro)*. Для дифференцировки фоторецептора R7 необходима активность гена *sevenless (sev)* в предшественнике R7, тогда как ген *bride of sevenless (boss)* должен быть активен в фоторецепторе R8. (По Rubin, 1989.)

дикого типа в клетке R8 одного омматидия не исправляет дефекта мутантного аллеля *boss* в соседнем омматидии (Reinke, Zipursky, 1988). Сводка известных индукций клетка-клетка в сетчатке *Drosophila* (рис. 16.30) показывает, что индивидуальная клетка способна индуцировать другую индивидуальную клетку, чем достигается точное расположение клеток в данной ткани.

Индукция вульвы у *Caenorhabditis elegans*

Развитие вульвы у *C. elegans* дает несколько примеров индукции на клеточном уровне. Первый из них представлен индукцией якорной клетки гонады. Как уже обсуждалось в гл. 11, формирование якорной клетки опосредовано геном *lin-12*, который, как полагают, кодирует рецепторный белок клеточной поверхности. У гермафродитов дикого типа потенциальной способностью стать якорной клеткой гонады обладают две соседние клетки — Z1.ppp и Z4.aaa. Эти клетки взаимодействуют таким образом, что в результате одна из них становится якорной клеткой гонады, а другая дает ткань матки. У рецессивных мутантов *lin-12* обе клетки становятся якорными, а у доминантных мутантов обе оказываются предшественниками матки (Greenwald et al., 1983). Результаты исследований с использованием генетических мозаиков и удалением клеток показали, что этот выбор происходит у личинки второго возраста и что функционирование гена *lin-12* необходимо лишь той клетке, которая станет предшественницей ткани матки. Презумптивной якорной клетке он не нужен. Было высказано предположение (Seydoux, Greenwald, 1989), что обе эти клетки изначально синтезируют и сигнал к дифференцировке матки (он еще не идентифицирован), и рецептор для этого модуля — белок *lin-12*. На определенном этапе развития личинки клетка, у которой секрция сигнала дифференцировки случайно оказалась более высо-

кой, вынуждает своего соседа снизить продукцию сигнальных молекул и повысить продукцию белка *lin-12*. Клетка, секретирующая сигнал, становится якорной клеткой гонады, а клетка, воспринимающая сигнал с помощью белка *lin-12*, становится брюшной клеткой-предшественницей матки. Таким образом, предполагается, что до проявления признаков дифференцировки эти две клетки детерминируют друг друга.

Следующий пример связан с детерминацией якорной клеткой судьбы шести **клеток-предшественниц вульвы**. Каждая из этих шести клеток эквивалентна и с одинаковым успехом может идти по одному из трех путей развития. Судьба этих клеток в значительной степени детерминируется близостью к якорной клетке. Якорная клетка служит источником сигнала, предположительно, способной к диффузии молекулы. Действие сигнала определяется положением его источника и мишени (рис. 16.31). Судьба клетки-предшественницы вульвы, располагающейся ближе всего к якорной клетке (обычно это P6.p), определяется первой: она получает инструкции к совершению трех симметричных делений, в результате которых образуются клетки вульвы. Далее определяется судьба двух клеток, расположенных по сторонам от этой первичной клетки: они инструктируются якорной клеткой к асимметричным делениям, дающим дополнительные клетки вульвы. Оставшиеся три потенциальные предшественницы вульвы не получают инструкции к дифференцировке вульвы. Их судьба – пройти одно деление, результатом которого будут клетки гиподермы нематоды (Ferguson et al., 1987). Если якорную клетку удалить сфокусированным лазерным лучом, то все шесть

предшественников вульвы останутся неиндуцированными и дадут гиподерму (Kimble, 1981).

Помимо сигнала, источником которого служит якорная клетка, еще один сигнал – от первичных клеток-предшественниц вульвы, – по-видимому, стабилизирует судьбу клеток. Этот сигнал, действующий на очень близком расстоянии, ингибирует вторичные предшественники вульвы, не позволяя им вступить на путь дифференцировки первичных предшественников, т.е. обеспечивает **латеральное ингибирование** (Sternberg, 1988).

Недавно была изучена генетическая основа этих индукций (Sternberg, Horvitz, 1989; Seydoux, Greenwald, 1989). Было обнаружено, что развитие вульвы регулируется по меньшей мере тремя наборами генов. Это *Vulvaless* (*Vul*), *Multivulva* (*Muv*) и *lin-12*. Дефектные по гену *Vul* нематоды не имеют вульвы (т.е. для ее образования необходим ген дикого типа). Все клетки-предшественницы вульвы у таких мутантов следуют по третьему пути развития. Напротив, у червей без генов *Vul* имеются вульвы, образованные каждой из шести потенциальных клеток-предшественниц вульвы; таким образом, для того чтобы предотвратить образование вульв из всех шести клеток-предшественниц, необходим аллель дикого типа, который ингибирует все клетки-предшественницы, кроме одной. Продукт гена *Multivulva*, который содержит все шесть вальвальных предшественниц, как полагают, ингибирует ген *Vulvaless*. При этом клетки-предшественницы не будут дифференцироваться в клетки вульвы, а дадут начало гиподерме. Однако сигнал от якорной клетки снимает репрессию *Muv*, и у клеток, получивших

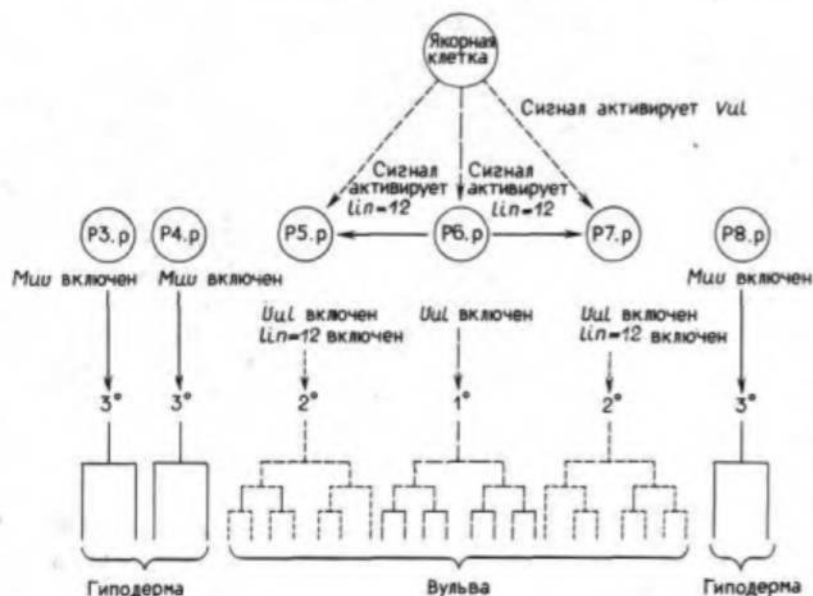


Рис. 16.31. Детерминация клеток вульвы у *C. elegans*. Сигнал со стороны якорной клетки вызывает активацию генов *Vulvaless* в трех из шести потенциальных клетках-предшественниц. Клетка, ближайшая к якорной, становится первичным предшественником вульвы. У трех клеток, не получивших стимула от якорной клетки, гены *Multivulva* репрессируют гены *Vulvaless* и эти клетки дифференцируются в гиподерму. Клетка-предшественник, ближайшая к якорной клетке, секретирует сигнал ближайшего действия, индуцирующий соседние клетки к активации гена *lin-12*. Этот ген обуславливает их дифференцировку во вторичные предшественники вульвы.

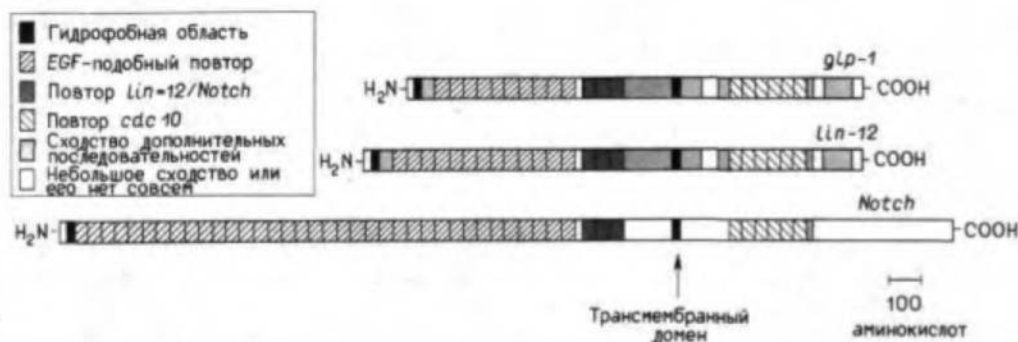


Рис. 16.32. Структурное сходство белков *lin-12*, *glp-1* и *Notch*. Все три белка совмещены по трансмембранным последовательностям; внеклеточные домены расположены слева. Четвертый член этого семейства был обнаружен недавно (Coffman et al., 1990) путем гибридизации радиоактивного зонда гена *Notch* с библиотекой кДНК, полученной на мРНК нейрулы *Xenopus*. Этот ген *Xenopus* по своей структуре чрезвычайно схож с геном *Notch* дрозофилы, и также экспрессируется в эктодерме. (По Yochem, Greenwald, 1989.)

этот сигнал, будет функционировать ген *Vulvaless* дикого типа. На этом этапе, таким образом, сигнал якорной клетки детерминирует судьбу трех клеток-предшественников вульвы и трех других клеток, дающих гиподерму. На следующем этапе создаются различия между первичными и вторичными клетками-предшественниками вульвы. Это достигается тем, что первичная клетка-предшественник вульвы продуцирует сигнал, активирующий в соседней клетке ген *lin-12*. В случае активности последнего клетка становится вторичным предшественником вульвы. У нематод с нефункционирующим геном *lin-12* клетки-предшественники вульвы следуют либо по первому, либо по третьему пути, но у них не будет вторичных клеток-предшественников. Таким образом, комбинированное действие двух межклеточных индукций специфицирует три типа дифференцировки потенциальных клеток-предшественников вульвы.

Критическая роль в детерминации судьбы клеток принадлежит гену *lin-12*, который, очевидно, кодирует рецепторный белок. Последовательность гена *lin-12* указывает на семейство мембранных белков, чье функционирование связано с восприятием дифференцировочных сигналов от соседних клеток (Yochem, Greenwald, 1989; Austin, Kimble, 1989). Как показано на рис. 16.32, последовательность белка *lin-12* очень сходна с последовательностью двух других — *glp-1* и *Notch*. Белок *glp-1* *C. elegans* (подробно этот вопрос обсуждается в гл. 22) необходим линии половых клеток для восприятия сигнала к продолжению митоза со стороны гонады. Белок *Notch* (см. гл. 11) необходим для дифференцировки эпидермальных клеток у *Drosophila*. При отсутствии этого белка эктодермальные клетки становятся нейробластами.

Все три белка начинаются с участка, несущего повторяющиеся последовательности, сходного с

частью молекулы фактора роста эпидермиса, называемой «EGF-подобными повторами». Затем следуют три повторяющиеся элемента, специфичные для этих мембранных белков. За трансмембранным участком все три белка имеют область, очень сходную с дрожжевым белком *cdc-10*, участвующим в регуляции клеточных делений. Механизмы, с помощью которых эти белки получают соответствующие морфогенетические сигналы и передают их в ядро, тщательно изучаются. Сочетание генетических, молекулярных и эмбриологических подходов позволяет нам приблизиться к пониманию сути индукционных событий, регулирующих судьбу клеток; в настоящее время мы пытаемся выявить молекулы, участвующие в этих процессах.

Индукция конечности у куриного зародыша

Некоторые биологи развития утверждают, что все процессы развития можно наблюдать на примере формирования конечностей; и действительно, с тех пор как Р. Дж. Харрисон в начале столетия начал экспериментальный анализ развития конечностей, некоторые из наиболее важных концепций биологии развития оформились в результате исследования этих структур. Основные черты развития конечности являются общими для всех позвоночных. Закладка конечности начинается с высвобождения мезенхимных клеток из соматического листка мезодермы боковой пластинки (рис. 16.33). Клетки мигрируют в латеральном направлении и собираются под эпидермальной тканью нейрулы. Окружное выпячивание на поверхности зародыша называется **почкой конечности**.

Харрисон (Harrison, 1918) обнаружил, что эти мезенхимные клетки играют существенную роль в развитии конечности.

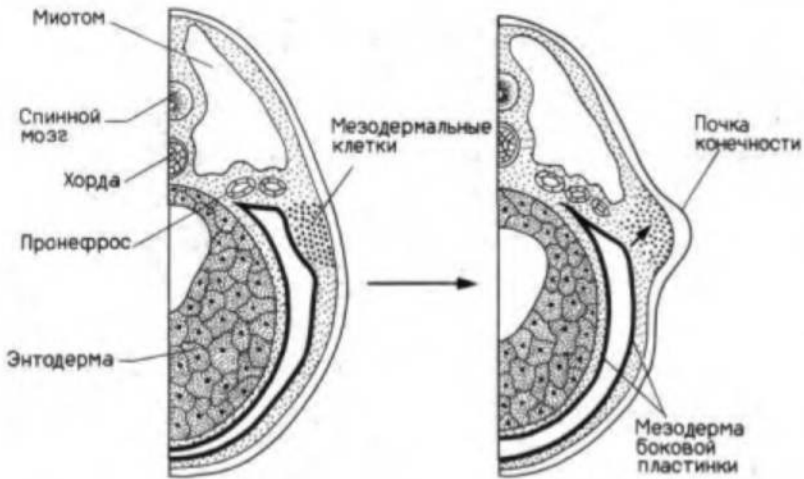


Рис. 16.33. Образование почки конечности. Миграция мезодермальных клеток из соматической области мезодермы боковой пластинки приводит к формированию почки конечности у зародыша амфибий. (По Balinsky, 1975.)

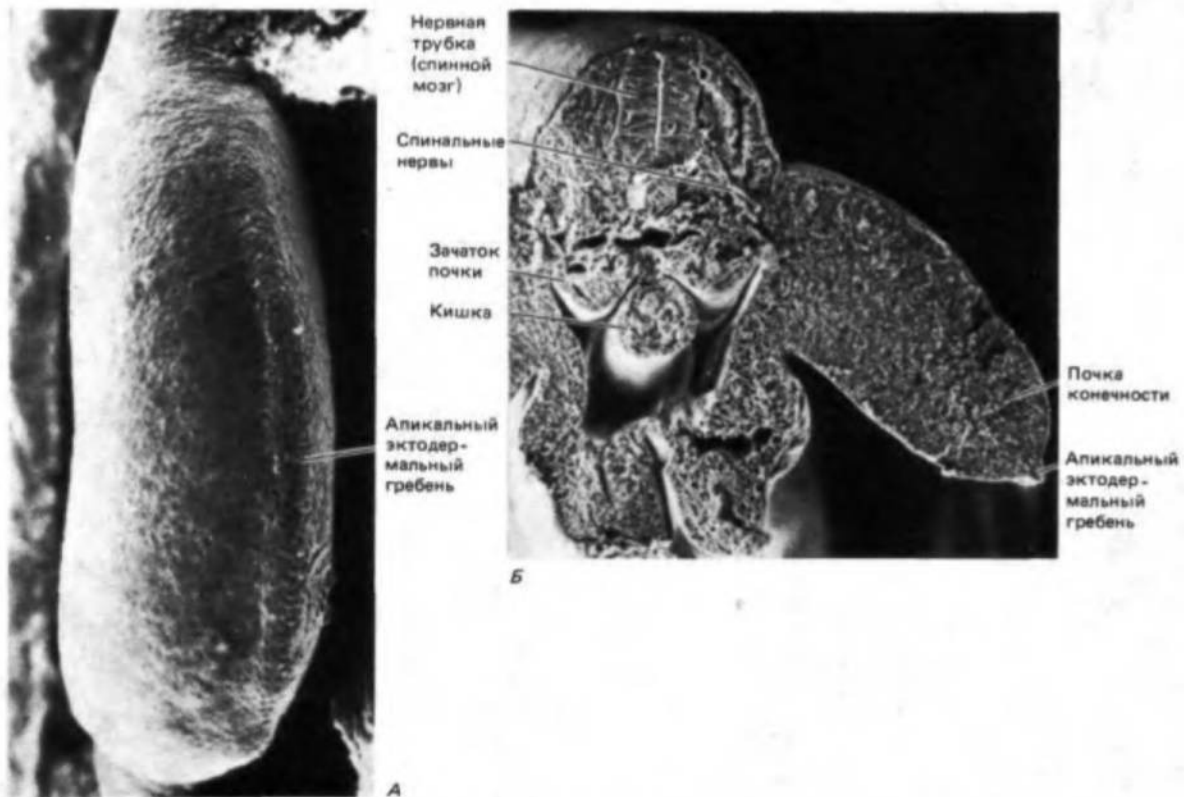


Рис. 16.34. Апикальный эктодермальный гребень. А. Полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа фотография почки крыла куриного зародыша с проходящим вдоль ее поверхности апикальным эктодермальным гребнем. Б. Разрез куриного зародыша на стадии 24–25 сомитов, проходящий через почку задней конечности; видно взаимоотношение почки конечности и АЭГ с развивающимся зародышем. Несмотря на то что клетки конечности еще не дифференцированы, можно различить спинальные нервы, врастающие в почку со стороны спинного мозга. (А – с любезного разрешения J. F. Fallon, B. K. Simandl; Б – из Tosney, Landmesser, 1985; с любезного разрешения K. W. Tosney.)

1. Если мезенхимные клетки удалить, то конечность не формируется.
2. Если мезенхиму конечности пересадить в новое место, то сформируется новая конечность.
3. Если скомбинировать мезенхиму задней конечности с эктодермой передней конечности, то сформируется задняя конечность.
4. Если эктодерму конечности пересадить в необычное для развития конечности место, то новой конечности на этом необычном месте не образуется.

Все это свидетельствует о том, что мезенхима конечности способна индуцировать формирование конечности. На примере птиц и млекопитающих можно наблюдать, как мезодерма индуцирует эктодермальные клетки к удлинению и образованию особой структуры — **апикального эктодермального гребня (АЭГ)** (рис. 16.34). Было также показано (Saunders et al., 1976), что АЭГ представляет собой самоподдерживающуюся популяцию клеток и по мере развития конечности не обменивается клетками со своим окружением. Клетки куриного зародыша и зародыша перепела легко различить по присутствию ядерного гетерохроматина (гл. 6), а если АЭГ перепела поместить на культуру почки куриной конечности, то конечность будет продолжать расти.

Однако АЭГ этой конечности по-прежнему будет состоять из перепелиных клеток, а окружающая эктодерма куриного зародыша не войдет в состав АЭГ. Коль скоро произошла индукция АЭГ, именно этот АЭГ и приобретает существенное значение для роста конечности и взаимодействует с мезенхимой (рис. 16.35):

1. Если АЭГ удалить на любой стадии развития конечности, то развитие конечности прекратится.
2. Если на почку конечности пересадить дополнительный АЭГ, то формируются сверхчисленные структуры, обычно в дистальной области.
3. Если мезодерму ноги поместить под АЭГ крыла, то от этой точки вперед разовьются структуры задней конечности.
4. Если мезодерму, при нормальном развитии не участвующую в образовании конечности, пересадить под АЭГ, то произойдет регрессия АЭГ и развитие конечности прекратится.

Таким образом, несмотря на то, что мезенхимные клетки индуцируют и поддерживают АЭГ, а также инструктируют АЭГ к формированию определенного типа конечности, АЭГ отвечает за поддержание роста и развития конечности (Zwilling,

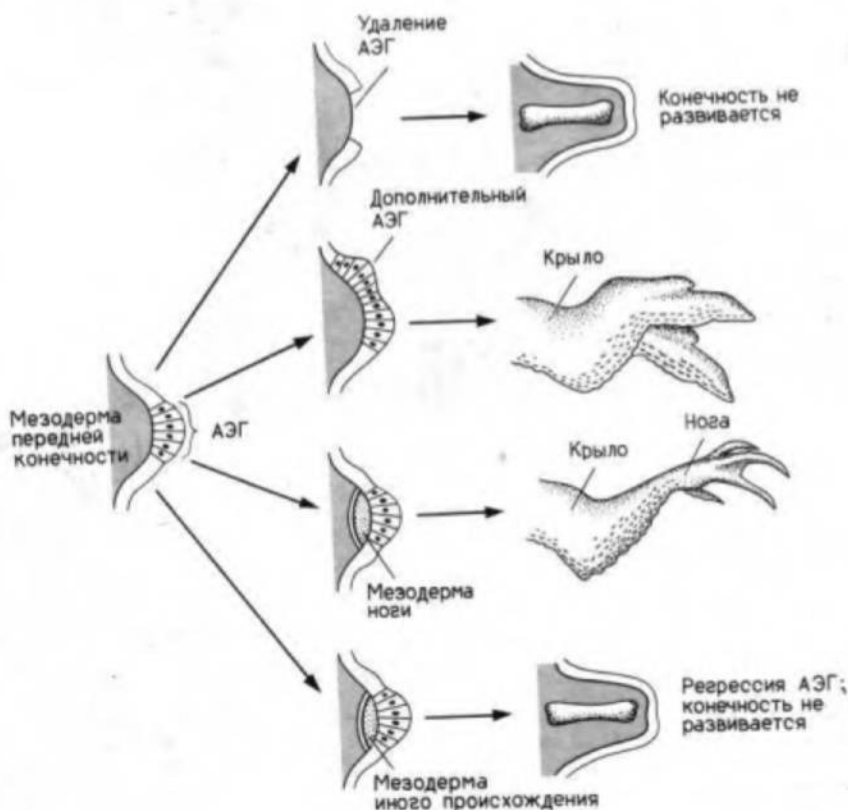


Рис. 16.35. Индуктивная роль апикального эктодермального гребня (АЭГ) по отношению к подлежащей мезенхиме. (По Wessells, 1977.)

Таблица 16.3. Мутации, влияющие на реципрокные взаимодействия между АЭГ и его подлежащей мезенхимой¹⁾

Мезодерма	Эпидермис	Результат	Заключение
POLYDACTYLOUS			
Polydactylous Дикого типа	Дикого типа Polydactylous	Polydactylous Дикий тип	Изменена мезодерма
EUDIPLOPODIA			
Eudiplopodia Дикого типа	Дикого типа Eudiplopodia	Дикий тип Eudiplopodia	Изменена эктодерма

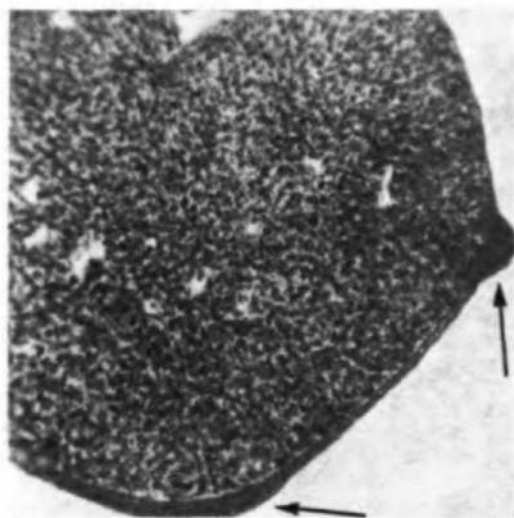
¹⁾ С помощью реципрокных трансплантаций между АЭГ и мезенхимой дикого типа и мутанта можно установить, какой из партнеров индукции является aberrантным.

1955; Saunders et al., 1957; Saunders, 1972). Кроме того, АЭГ ингибирует образование хряща мезенхимными клетками непосредственно под гребнем. Было показано, что эктодерма конечности вообще обладает свойством ингибировать хондрогенез в более старшей мезенхиме (Solursh, Reiter, 1988) и что если вырезать небольшую часть АЭГ из области, которая в норме будет располагаться между пальцами конечности шпыленка, то на этом месте появится дополнительный палец (Hurl et al., 1989).

Отношения между АЭГ и мезенхимой почки конечности наилучшим образом иллюстрируют две мутации, влияющие на развитие конечности у куриного зародыша — *polydactylous* и *eudiplopodia*. Мутация *polydactylous*, как свидетельствует само название, выражается в развитии сверхчисленных пальцев на каждой из конечностей. Путем совмещения мутант-

ной ткани с тканью дикого типа (табл. 16.3) удалось проследить причину возникновения дефекта до мезодермальных клеток, которые индуцируют слишком широкий АЭГ. В случае мутации *eudiplopodia* (от греческого слова, означающего «две хорошие ноги») закладываются не только дополнительные пальцы в области крыла, но формируются также два полных ряда пальцев на каждой из задних конечностей (рис. 16.36). Аналогичные эксперименты с реконституциями (табл. 16.3) свидетельствуют о том, что причина дефекта кроется в эктодермальной ткани.

Очевидно, что вторичная индукция, по природе своей часто реципрокная (как это видно на примере развития почки и конечности), играет существенную роль в формировании органа. Однако одной лишь вторичной индукции недостаточно для развития



А



Б

Рис. 16.36. Поперечные срезы почек задних конечностей куриного зародыша с мутацией *eudiplopodia*. А. Два АЭГ (указаны стрелками) на почке задней конечности; дополнительный вырост на дорсальной стороне даст дополнительный набор пальцев. Б. Поверхность обоих выростов покрыта АЭГ. (Из Goetinck, 1964; фотографии с любезного разрешения Р. Goetinck.)

полного органа. Должен существовать какой-то механизм, следящий за тем, чтобы кисть не развилась слишком далеко от тела или чтобы не сформировалось два больших пальца. Должен также существовать некий механизм, следящий за тем, чтобы ноги и руки развивались в соответствующей области тела и не развивались в других местах. Сходным образом должен иметься механизм, с помощью которого нервы, идущие от сетчатки, передадут эту информацию в определенную область мозга, хотя сетчатка и может получать изображения от чрезвычайно точно скоординированного глаза. Следующая глава будет посвящена дальнейшему изучению формирования органов, причем основное внимание будет уделено становлению пространственной организации зародыша.

ЛИТЕРАТУРА

- Ash J. F., Singer S. J. (1976). Concanavalin A-induced transmembrane linkage of concanavalin A subface receptor to intracellular myosin-containing filaments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **71**, 4575–4579.
- Balinsky B. I. (1975). *Introduction to Embryology*, 4th Ed., Saunders, Philadelphia.
- Banerjee S., Bernfield M. (1979). Developmentally regulated neutral hyaluronidase activity during epithelial mesenchymal interaction. *J. Cell Biol.*, **83**, 469a.
- Bernfield M., Banerjee S. D. (1982). The turnover of basal lamina glycosaminoglycan correlates with epithelial morphogenesis. *Dev. Biol.*, **90**, 291–305.
- Bishop-Calame S. (1966). Etude experimentale de l'organogenèse du système urogénital de l'embryon de poulet. *Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp.*, **55**, 215–309.
- Brown K. M., Muchmore A. V., Rosenstreich D. L. (1986). Uromodulin, an immunosuppressive protein derived from pregnancy urine, is an inhibitor of interleukin 1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 9119–9123.
- Cahn P. H. (1959). Comparative optic development in *Astyanax mexicanus* and in two of its blind cave derivatives. *Bull. Am. Mus. Natl. Hist.*, **115**, 72–112.
- Chow I., Poo M.-M. (1982). Redistribution of cell surface receptor induced by cell-cell contact. *J. Cell Biol.*, **95**, 510–518.
- Chuong C.-M., Edelman G. M. (1985). Expression of cell adhesion molecules in embryonic induction. I. Morphogenesis of nestling feathers. *J. Cell Biol.*, **101**, 1009–1026.
- Cole R. K. (1967). Ametapodia, a dominant mutation in the fowl. *J. Hered.*, **58**, 141–146.
- Coulombre J. L., Coulombre A. J. (1971). Metaplastic induction of scales and feathers in the corneal anterior epithelium of the chick embryo. *Dev. Biol.*, **25**, 464–478.
- Cutler L. S., Chaudhry A. P. (1973). Intercellular contacts at the epithelial-mesenchymal interface during prenatal development of the rat submandibular gland. *Dev. Biol.*, **33**, 229–240.
- Czihak G. (1971). Echinoids. In: G. Reverberi (ed.), *Experimental Embryology of Marine and Freshwater Invertebrate*, Elsevier North-Holland, Amsterdam, pp. 383–506.
- Dalgleish A. G., Beverley P. C. L., Clapham P. R., Crawford D. H., Greaves M. F., Weiss R. A. (1984). The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature*, **312**, 763–767.
- Daya S., Rosenthal K. L., Clark D. A. (1987). Immunosuppressor factor(s) produced by decidua-associated suppressor cells: A proposed mechanism for fetal allograft survival. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **156**, 344–350.
- Deuchar E. M. (1975). *Cellular Interactions in Animal Development*, Chapman and Hall, London.
- Dintzis H. M., Dintzis R. Z., Vogelstein B. (1976). Molecular determinants of immunogenicity: The immunon model of immune response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **73**, 3671–3675.
- Dintzis R. Z., Vogelstein B., Dintzis H. M. (1982). Specific cellular stimulation in the primary immune response: Experimental test of a quantized model. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 884–888.
- Edelman G. M., Spear P. G., Rutishauser U., Yahara I. (1974). Receptor specificity and mitogenesis in lymphocyte populations. In: A. A. Moscona (ed.), *The Cell Surface in Development*, Wiley, New York, pp. 141–164.
- Eklom P., Thesleff I., Saxén L., Miettinen A., Timpl R. (1983). Transferrin as a fetal growth factor: Acquisition of responsiveness related to embryonic induction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 2651–2655.
- Flanagan J., Koch G. C. E. (1978). Cross-linked surface Ig attaches to actin. *Nature*, **273**, 278–281.
- Gemmell J. F. (1912). The development of the starfish *Solaster endeca* (Forbes). *Trans. Zool. Soc. Lond.*, **20**, 1–72.
- Gluecksohn-Schoenheimer S. (1943). The morphological manifestations of a dominant mutation in mice affecting tail and urogenital system. *Genetics*, **28**, 341–348.
- Goettink P. F. (1964). Studies on limb morphogenesis. II. Experiments with the polydactylous mutant *eudiplopodia*. *Dev. Biol.*, **10**, 71–91.
- Goettink P. F., Sekellick M. J. (1972). Observations on collagen synthesis, lattice formation, and the morphology of scaleless and normal embryonic skin. *Dev. Biol.*, **28**, 636–648.
- Goldschmidt R. (1933). Some aspects of evolution. *Science*, **78**, 539–547.
- Grobstein C. (1955). Induction interaction in the development of the mouse metanephros. *J. Exp. Zool.*, **130**, 319–340.
- Grobstein C. (1956). Trans-filter induction of tubules in mouse metanephrogenic mesenchyme. *Exp. Cell Res.*, **10**, 424–440.
- Grobstein C., Cohen J. (1965). Collagenase: Effect on the morphogenesis of embryonic salivary epithelium in vitro. *Science*, **150**, 626–628.
- Guillet J.-C., and 7 others. (1987). Immunological self, nonself discrimination. *Science*, **235**, 865–870.
- Hamaoka T., Ono S. (1986). Regulation of B-cell differentiation. *Annu. Rev. Immunol.*, **4**, 167–204.
- Hamburger M. (1970). *Theories of Differentiation*, Elsevier, New York.
- Harrison R. G. (1918). Experiments on the development of the forelimb of *Amblystoma*, a self-differentiating equipotential system. *J. Exp. Zool.*, **25**, 413–461.
- Harrison R. G. (1920). Experiments on the lens in *Amblystoma*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **17**, 199–200.
- Harrison R. G. (1933). Some difficulties of the determination problem. *Am. Nat.*, **67**, 306–321.
- Hay E. D., Dodson J. W. (1973). Secretion of collagen by corneal epithelium. I. Morphology of the collagenous products produced by isolated epithelia grown on frozen-killed lens. *J. Cell Biol.*, **57**, 190–213.
- Hay E. D., Revel J.-P. (1969). Fine structure of the developing avian cornea. In: A. Wolsky and P. S. Chen (eds.), *Monographs in Developmental Biology*, Karger, Basel.
- Henry J. J., Grainger R. M. (in press). Inductive interactions in the spatial and temporal restriction of lens forming potential in embryonic ectoderm of *Xenopus laevis*. *Dev. Biol.*
- Holtzer H. (1968). Induction of chondrogenesis: A concept in terms of mechanisms. In: R. Gleichmajer and R. E. Billingham (eds.), *Epithelial-Mesenchymal Interactions*, Williams and Wilkins, Baltimore, pp. 152–164.

- Houghton A., Real F.X., Davis L.J., Cordon-Cardo C., Old L.J. (1987). Phenotypic heterogeneity of melanoma. Relation to the differentiation program of melanocyte cells, *J. Exp. Med.*, **164**, 812-829.
- Howard M., Paul W.E. (1983). Regulation of B-cell growth and differentiation by soluble factors, *Annu. Rev. Immunol.*, **1**, 307-333.
- Inabar K., Witmer M.D., Steinman R.M. (1984). Clustering of dendritic cells, Helper T lymphocytes, and histocompatible B cell during primary antibody responses in vitro, *J. Exp. Med.*, **160**, 858-876.
- Ishizaka T., Hirata F., Ishizaka K., Axelrod J. (1980). Stimulation of phospholipid methylation, Ca^{++} influx, and histamine release by binding of IgE receptors on rat mast cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**, 1903-1906.
- Jacob F. (1977). Evolution and tinkering, *Science*, **196**, 1161-1166.
- Jacobson A.G. (1966). Inductive processes in embryonic development, *Science*, **152**, 25-34.
- Janeway C.A., Ron J., Katz M.E. (1987). The B-cell is the initiating antigen-presenting cell in peripheral lymph nodes, *J. Immunol.*, **138**, 1051-1055.
- Killar L., MacDonald G., West J., Woods A., Bottomly K. (1987). Cloned, Ia-restricted T cells that do not produce IL4 (BSF-1) fail to help antigen-specific B cells, *J. Immunol.*, **138**, 1674-1679.
- King M.-C., Wilson A.C. (1975). Evolution at two levels in humans and chimpanzees, *Science*, **188**, 107-116.
- Klatmann D., and 10 others. (1984). Selective tropism of lymphadenopathy associated virus (LAV) for helper-inducer T lymphocytes, *Science*, **225**, 59-63.
- Kollar E.J., Fisher C. (1980). Tooth induction in chick epithelium: Expression of quiescent genes for enamel synthesis, *Science*, **207**, 993-995.
- Lanzavecchia A. (1985). Antigen-specific interaction between T and B cells, *Nature*, **314**, 537-539.
- Lee T., and 11 others. (1986). Isolation and characterization of a mouse interleukin cDNA clone that expresses B-cell stimulatory factor 1 activity and T-cell- and mast cell-stimulating activities, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 2061-2065.
- Lehtonen E. (1975). Epithelio-mesenchymal interface during mouse kidney tubule induction in vivo, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **34**, 695-705.
- Lehtonen E., Wartiovaara J., Nordling S., Saxén D. (1975). Demonstration of cytoplasmic processes in Millipore filters permitting kidney tubule induction, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **33**, 187-203.
- Levine S., Pictel R., Rutter W.J. (1973). Control of cell proliferation and cytodifferentiation by a factor reacting with the cell surface, *Nature New Biol.*, **246**, 49-52.
- Liedke K.B. (1951). Lens competence in *Amblystoma punctatum*, *J. Exp. Zool.*, **117**, 573-591.
- Liedke K.B. (1955). Studies on lens induction in *Amblystoma punctatum*, *J. Exp. Zool.*, **130**, 353-379.
- Mauger A., Demarchez M., Herbage D., Grimaud J.A., Druquet M., Hartmann D., Sengel P. (1982). Immunofluorescent localization of collagen types II and III, and of fibronectin during feather morphogenesis in the chick embryo, *Dev. Biol.*, **94**, 93-105.
- Mauger A., Demarchez M., Herbage D., Grimaud J.A., Druquet M., Hartmann D.J., Foidart J.M., Sengel P. (1983). Immunofluorescent localization of collagen types I, III and IV, fibronectin, and laminin during morphogenesis of scales and scaleless skin in the chick embryo, *Wilhelm Roux Arch. Dev. Biol.*, **192**, 205-215.
- McKeenham M.S. (1951). Cytological aspects of embryonic lens induction in the chick, *J. Exp. Zool.*, **117**, 31-64.
- Meier S., Hay E.D. (1974). Control of corneal differentiation by extracellular materials. Collagen as a promoter and stabilizer of epithelial stroma production, *Dev. Biol.*, **38**, 249-270.
- Meier S., Hay E.D. (1975). Stimulation of corneal differentiation by interaction between the cell surface and extracellular matrix. I. Morphometric analysis of transfilter induction, *J. Cell Biol.*, **66**, 275-291.
- Melchers F., Andersson J. (1986). Factors controlling the B cell cycle, *Annu. Rev. Immunol.*, **4**, 13-36.
- Mosier D.E. (1967). A requirement for two cell types for antibody formation in vitro, *Science*, **158**, 1573-1575.
- Muthukkaruppan V.R. (1965). Inductive tissue interaction in the development of the mouse lens in vitro, *J. Exp. Zool.*, **159**, 269-288.
- Nakanishi Y., Morita T., Nogawa H. (1987). Cell proliferation is not required for the initiation of early cleft formation in mouse embryonic submandibular epithelium in vitro, *Development*, **99**, 429-437.
- Nakanishi Y., Sugiura F., Kishi J.-I., Hayakawa T. (1986a). Collagenase inhibitor stimulates cleft formation during early morphogenesis of mouse salivary gland, *Dev. Biol.*, **113**, 201-206.
- Nakanishi Y., Sugiura F., Kishi J.-I., Hayakawa T. (1986b). Scanning electron microscopic observations of mouse embryonic submandibular glands during initial branching. Preferential localization of fibrillar structures at the mesenchymal ridges participating in cleft formation, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **96**, 65-77.
- O'Garra A., Warren D.J., Holman M., Popham A.M., Sanderson C.J., Klaus G.G.B. (1986). Interleukin 4 (B cell growth factor II/eosinophil differentiation factor) is a mitogen and differentiation factor for preactivated B lymphocytes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 5228-5232.
- Ohno S. (1970). *Evolution by Gene Duplication*, Springer-Verlag, New York.
- Oldstone M.B.A. (1982). Immunopathology of persistent viral infection, *Hospital Practice*, **17**(12), 61-72.
- Pierce B.G. (1985). Carcinoma is to embryology as mutation is to genetics, *Am. Zool.*, **25**, 707-712.
- Roux W. (1894). The problems, methods, and scope of developmental mechanics, *Lectures of the Marine Biological Laboratory*, Ginn and Co., Boston, pp. 149-190.
- Rutter W.J., Pictel R.L., Harding J.D., Chirgwin J.M., MacDonald R.J., Przybyla A.E. (1978). An analysis of pancreatic development: Role of mesenchymal factor and other extracellular factors. In: J. Papaconstantinou and W.J. Rutter (eds.), *Molecular Control of Proliferation and Differentiation*, Academic, New York, pp. 205-277.
- Rutter W.J., Wessells N.K., Grobstein C. (1964). Controls of specific synthesis in the developing pancreas, *Natl. Cancer Inst. Monogr.*, **13**, 51-65.
- Saunders J.W., Jr. (1972). Developmental control of three-dimensional polarity in the avian limb, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **193**, 29-42.
- Saunders J.W., Jr. (1980). *Developmental Biology*, Macmillan, New York.
- Saunders J.W., Jr., Cairns J.M., Gasseling M.T. (1957). The role of the apical ridge of ectoderm in the differentiation of the morphological structure and inductive specificity of limb parts of the chick, *J. Morphol.*, **101**, 57-88.
- Saunders J.W., Jr., Gasseling M.T., Erick J.E. (1976). Inductive activity and enduring cellular constitution of a supernumerary apical ectodermal ridge grafted to the limb bud of the chick embryo, *Dev. Biol.*, **50**, 16-25.
- Saxén L., Lehtonen E., Kärkinen-Jääskeläinen M., Nordling S., Wartiovaara J. (1976). Are morphogenetic tissue interactions mediated by transmissible signal substances or through cell contacts? *Nature*, **259**, 662-663.
- Schlapp K.W. (1892). Das Auge des Grottenolmes (*Proteus anguineus*), *Z. Wiss. Zool.*, **53**, 537-557.
- Slavkin H.C., Bringas P., Jr. (1976). Epithelial-mesenchymal interactions during odontogenesis. IV. Morphological evi-

- dence for direct heterotypic cell-cell contacts, *Dev. Biol.*, **428**, 428–442.
- Snow E. C., Noelle R. J., Uhr J. W., Vitetta E. S. (1983). Activation of antigen-enriched B cells. II. Role of linked recognition in B cell proliferation to thymus-dependent antigens, *J. Immunol.*, **130**, 614–618.
- Spemann H. (1938). *Embryonic Development and Induction*, Yale University Press, New Haven.
- Spemann H., Schotté O. (1932). Über xenoplastische Transplantation als Mittel zur Analyse der embryonalen Induction, *Naturwissenschaften*, **20**, 463–467.
- Spooner B. S., Cohen H. I., Faubion J. (1977). Development of the embryonic mammalian pancreas: The relationship between morphogenesis and cytodifferentiation, *Dev. Biol.*, **61**, 119–130.
- Springer T. A. (1987). The LFA-1, Mac-1 glycoprotein family and its deficiency in an inherited disease, *Fed. Proc.*, **44**, 2660–2663.
- Springer T. A., Thompson W. S., Miller L. J., Schmalstieg F. C., Anderson D. C. (1984). Inherited deficiency of the Mac-1, LFA-1, p150,95 glycoprotein family and its molecular basis, *J. Exp. Med.*, **160**, 1901–1918.
- Stuart E. S., Garber B., Mascona A. (1972). An analysis of feather germ formation in normal development and in skin treated with hydrocortisone, *J. Exp. Zool.*, **179**, 97–110.
- Sugrue S. P., Hay E. D. (1982). Interaction of embryonic corneal epithelium with exogenous collagen, laminin, and fibronectin: Role of endogenous protein synthesis, *Dev. Biol.*, **92**, 97–106.
- Thesleff I., Partanen A. M., Landschulz W., Towbridge I. S., Ekblom P. (1985). The role of transferrin receptors and iron delivery in mouse embryonic morphogenesis, *Differentiation*, **30**, 152–158.
- Toivonen S. (1979). Transmission problem in primary induction, *Differentiation*, **15**, 177–181.
- Tomasek J. J., Hay E. D., Fujiwara K. (1982). Collagen modulates cell shape and cytoskeleton of embryonic corneal and fibroblast fibroblasts: Distribution of actin, α -actin, and myosin, *Dev. Biol.*, **92**, 107–122.
- Tosney K. W., Landmesser L. T. (1985). Development of the major pathways for neurite outgrowth in the chick hindlimb, *Dev. Biol.*, **109**, 193–214.
- Ubaghs G. (1967). General characteristics of Echinodermata. In: R. C. Moore (ed.), *Treatise on Invertebrate Paleontology*, Part 5, Echinodermata 1, Vol. 1, University of Kansas Press, Lawrence, pp. 3–60.
- Unanue E. R., Askonas B. A. (1968). The immune response of mice to antigen in macrophages, *Immunology*, **15**, 287–296.
- Wessells N. K. (1970). Mammalian lung development: Interactions in formulation and morphogenesis of tracheal buds, *J. Exp. Zool.*, **175**, 455–466.
- Wessells N. K. (1977). *Tissue Interaction and Development*, W. A. Benjamin, Menlo Park, CA.
- Wessells N. K., Cohen J. H. (1968). Effects of collagenase on developing epithelia in vitro: Lung, ureteric bud, and pancreas, *Dev. Biol.*, **18**, 294–309.
- Wessells N. K., Evans J. (1968). The ultrastructure of oriented cells and extracellular materials between developing feathers, *Dev. Biol.*, **18**, 42–61.
- Yaffe L. J., Finkelman F. D. (1983). Induction of a B lymphocyte receptor for a T-cell-replacing factor by the crosslinking of surface IgD, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 293–297.
- Zwilling E. (1955). Ectoderm-mesoderm relationship in the development of the chick embryo limb bud, *J. Exp. Zool.*, **128**, 423–441.

Дополнительная литература к 3-му изданию

- Austin J., Kimble J. (1989). Transcript analysis of *glp-1* and *lin-12*, homologous genes required for cell interactions during development of *C. elegans*, *Cell*, **58**, 565–571.
- Banerjee U., Renfranz P. J., Pollock J. A., Benzer S. (1987). Molecular characterization and expression of *sevenless*, a gene involved in neuronal pattern formation in the *Drosophila* eye, *Cell*, **49**, 281–291.
- Basler K., Hafen E. (1989). Ubiquitous expression of *sevenless*: Position-dependent specification of cell fate, *Science*, **243**, 931–934.
- Bowtell D. D. L., Simon M. A., Rubin G. M. (1989). Ommatidia in the developing *Drosophila* eye require and can respond to *sevenless* for only a restricted period, *Cell*, **56**, 931–936.
- Charlebois T. S., Spencer D. H., Tarkington S. K., Henry J. J., Grainger R. M. (1990). Isolation of a chick cytochrome cDNA clone which detects regional specialization in early embryonic ectoderm, *Development*, **108**, 33–45.
- Coffman C., Harris W., Kintner C. (1990). *Xotch*, the *Xenopus* homolog of *Drosophila Notch*, *Science*, **249**, 1438–1441.
- Ferguson E. C., Sternberg P. W., Horvitz R. (1987). A genetic pathway for the specification of vulval cell lineages of *Caenorhabditis elegans*, *Nature*, **326**, 259–267.
- Greenwald I., Sternberg P. W., Horvitz R. (1983). The *lin-12* locus specifies cell fates in *Caenorhabditis elegans*, *Cell*, **34**, 435–444.
- Grunwald G. B., Gilbert S. F., Brewer K., Cleland L., Kawai M. (1990). Immunocytochemical analysis of embryonic compartmentation with a monoclonal antibody against a cytochrome-related antigen, *Histochemistry*, **94**, 545–553.
- Hafen E., Basler K., Edstrom J. E., Rubin G. M. (1987). *Sevenless*, a cell specific homeotic gene of *Drosophila*, encodes a putative transmembrane receptor with a tyrosine kinase domain, *Science*, **236**, 55–63.
- Henry J. J., Grainger R. M. (1987). Inductive interactions in the spatial and temporal restriction of lens-forming potential in embryonic ectoderm, *Dev. Biol.*, **124**, 200–214.
- Henry J. J., Grainger R. M. (1990). Early tissue interactions leading to embryonic lens formation in *Xenopus laevis*, *Dev. Biol.*, **141**, 149–163.
- Hurle J. M., Galian Y., Macias D. (1989). Experimental analysis of the in vivo chondrogenic potential of the interdigital mesenchyme of the chick limb bud subjected to local ectodermal removal, *Dev. Biol.*, **132**, 368–374.
- Jacobson A. G., Sater A. K. (1988). Features of embryonic induction, *Development*, **104**, 341–359.
- Kimble J. (1981). Alterations in cell lineage following laser ablation of cells in the somatic gonad of *Caenorhabditis elegans*, *Dev. Biol.*, **87**, 286–300.
- Lelongt B., Makino H., Dalecki T. M., Kanwar Y. S. (1988). Role of proteoglycans in renal development, *Dev. Biol.*, **128**, 256–276.
- Meier S. (1977). Initiation of corneal differentiation prior to cornea-lens association, *Cell Tiss. Res.*, **184**, 255–267.
- Pritchard-Jones K. and 11 others (1990). The candidate Wilms' tumor gene is involved in genitourinary development, *Nature*, **346**, 194–197.
- Reinke R., Zipursky A. L. (1988). Cell-cell interaction in the *Drosophila* retina: The *bride of sevenless* gene is required in protoreceptor cell R8 for R7 cell development, *Cell*, **55**, 321–330.
- Repraeger A., Bernfield M. (1985). Cell surface proteoglycan of mouse mammary epithelial cells: Protease releases a heparin sulfate-rich ectodomain from a putative membrane-anchored domain, *J. Biol. Chem.*, **260**, 4103–4109.
- Rubin G. M. (1989). Development of the *Drosophila* retina: inductive events studied at single cell resolution, *Cell*, **57**, 519–520.
- Saha M. S., Spann C. L., Grainger R. M. (1989). Embryonic lens

- induction: More than meets the optic vesicle, *Cell Differ. Dev.*, **28**, 153–172.
- Servetnick M., Grainger R.M. (1990). Changes in competence occur autonomously in *Xenopus* ectoderm. (Abstract) Forty-Ninth Annual Symposium of the Society for Development Biology, Alan R. Liss, New York, p. 4.
- Seydoux G., Greenwald I. (1989). Cell autonomy of *lin-12* function in a cell fate decision in *C. elegans*, *Cell*, **57**, 1237–1245.
- Solursh M., Reiter R.S. (1988). Inhibitory and stimulatory effects of limb ectoderm on in vitro chondrogenesis, *J. Exp. Zool.*, **248**, 147–154.
- Sternberg P.W. (1988). Lateral inhibition during vulval induction in *Caenorhabditis elegans*, *Nature*, **335**, 551–554.
- Sternberg P.W., Horvitz H.R. (1989). The combined action of two intercellular signalling pathways specifies three cell fates during vulval induction in *C. elegans*, *Cell*, **58**, 679–693.
- Tomlinson A. (1988). Cellular interactions in the developing *Drosophila* eye, *Development*, **104**, 183–193.
- Tomlinson A., Ready D.F. (1987). Cell fate in the *Drosophila* ommatidium, *Dev. Biol.*, **123**, 264–275.
- Tosney K.W., Landmesser L.T. (1985). Development of the major pathways for neurite outgrowth in the chick hind-limb, *Dev. Biol.*, **109**, 193–214.
- Vainio S., Lehtonen E., Jalkanen M., Bernfield M., Saxén L. (1989a). Epithelial–mesenchymal interactions regulate the stage-specific expression of a cell surface proteoglycan, syndecan, in the developing kidney, *Dev. Biol.*, **134**, 382–391.
- Vainio S., Jalkanen M., Thesleff I. (1989b). Syndecan and tenascin expression is induced by epithelial–mesenchymal interactions in embryonic tooth mesenchyme, *J. Cell Biol.*, **108**, 1945–1954.
- van Heyningen V. and 11 others. (1990). Role for Wilms tumor gene in genital development? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 5383–5386.
- von Woellwarth V. (1961). Die Rolle des neuralleistenmaterials und der Temperatur bei der Determination der Augenlinse, *Embriologia*, **6**, 219–242.
- Yochem J., Greenwald I. (1989). *glp-1* and *lin-12* genes implicated in distinct cell–cell interactions in *C. elegans*, encode similar transmembrane proteins, *Cell*, **58**, 553–563.

Глава 17

Формирование пространственной организации

Итак, за всеми вопросами количества стоят вопросы формирования пространственной организации, которые имеют существенное значение для понимания Природы.

АЛФРЕД НОРТ УАЙТХЕД (1934)

Биохимии и морфологии в ближайшем будущем предстоит взаимопроникновение без каких-либо различий или преимуществ. Форма больше не отдается на откуп морфологу, а молекулярная точность больше не служит заповедной территорией химика.

ДЖОЗЕФ НИДХЭМ (1967)

Теория без фактов – фантазия, но факты без теории – хаос.

К. УИТМЕН (1894)

Введение

Формирование пространственной организации – это результат функциональной активности эмбриональных клеток, посредством которой осуществляется упорядоченное расположение дифференцированных тканей. Способность к такой организации представляется одним из наиболее эффективных свойств развивающегося организма, которое вызывает чувство благоговения как у ученых, так и у непрофессионалов. Каким образом в зародыше не только возникают различные типы клеток, но и создаются функциональные ткани и органы? Одно дело – дифференцировка хондроцитов или остеоцитов, синтезирующих соответственно хрящевой и костный матриксы, другое дело – образовывать эти клетки в такой пространственно-временной ориентации, которая приводит к созданию функциональной кости. При этом должна выполняться еще одна задача, а именно создаваться определенная кость, например плечевая, тазовая или бедренная. Способность клеток узнавать свое положение в пределах ограниченной популяции клеток и дифференцироваться в соответствии с получаемой ими позиционной информацией стала объектом интенсивного изучения.

Формирование пространственной организации включает реализацию выбора одного из возможных путей развития. Каким образом происходит так, что клетка, потенциально способная стать хрящевой или мышечной, становится мышечной, если распо-

лагается в одном месте, и хрящевой, если оказывается в другом? Каким образом аксон проинформирован о том, что ему следует расти от спинного мозга к кончику указательного пальца, а не к пальцу ноги или к зубу?

Градиентная модель позиционной информации

Каким образом клетки получают информацию относительно своего положения в зародыше и как они используют эту информацию для дифференцировки в соответствующий клеточный тип? Чтобы объяснить это, были предложены две основные гипотезы, хотя этими двумя гипотезами соответствующие теоретические построения не ограничиваются. В основе одной гипотезы лежит представление о **градиентах** морфогенетических веществ (Boveri, 1901; Child, 1941; Wolpert, 1971). Предполагается, что растворимое вещество (**морфоген**) диффундирует от «источника» (где оно продуцируется) к «стоку» (где оно разрушается), образуя в области диффузии постепенный спад концентрации. (Таким образом, морфогены представляют собой аналоги хемотактических веществ, обсуждаемых в гл. 15, которые также действуют путем установления градиента концентрации от источника. Подобно хемотактическим веществам, морфогены должны легко диф-

фундировать и разрушаться или инактивироваться.) Согласно теоретическим расчетам (Crick, 1970), такие градиенты могут проявлять свое действие на относительно небольших расстояниях (менее 100 клеточных диаметров). Мы уже встречались с градиентными моделями при попытке объяснить формирование пространственной организации зародыша морского ежа (гл. 8).

Модель французского флага

Волперт (Wolpert, 1978) иллюстрировал возможное действие отдельного градиента, представив плоскую ткань в виде французского флага (рис. 17.1). Предположим, что источник морфогена распола-

гается на левой границе синей полосы, а на другом конце флага — на правой границе красной полосы — находится место выведения морфогена. Таким образом, перед нами — градиент концентрации, причем на одном конце флага/ткани концентрация самая высокая, а на другом — самая низкая. Все клетки полипотентны, т.е. каждая может стать либо синей, либо белой, либо красной, и эта спецификация коррелирована с концентрацией морфогена. Клетки, получившие наибольшее количество морфогена, становятся синими. Однако существует порог концентрации морфогена, ниже которого клетки становятся белыми. При падении концентрации ниже следующего порога клетки становятся красными.

Экстраполяция «модели французского флага»



Б

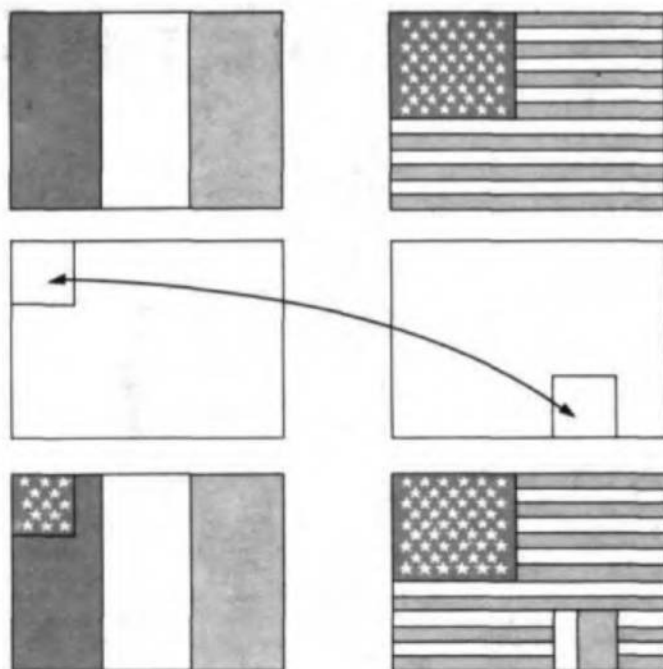


Рис. 17.1. Объяснение действия градиента позиционной информации на модели французского флага. А. В соответствии с моделью Волперта позиционная информация передается посредством снижения концентрации растворимого морфогена по мере удаления от источника к стоку, т.е. области бесконечного разведения. Пороги, обозначенные слева, означают свойства клеток, позволяющие им интерпретировать градиент; например, при одном пороге морфогена клетка становится синей, при другом — белой и при третьем — красной. В результате формируется трехцветная структура (как на французском флаге). Б. Важная особенность модели состоит в том, что кусочек ткани, трансплантированный из одной области в другую, сохраняет свою идентичность, но дифференцируется в соответствии с новыми позиционными инструкциями. Эту особенность схематически иллюстрируют «пересадки» участка флага одной страны на флаг другой. (По Wolpert, 1978.)

представлена на рис. 17.1, Б. Кусочек ткани, трансплантированный из одной области в другую, сохраняет свою специфичность, но дифференцируется в соответствии со своим новым положением. Например, если вновь обратиться к эксперименту, обсуждавшемуся в гл. 16, фрагмент презумптивной кожи брюха гастролы саламандры после пересадки в область презумптивной оральной эктодермы гастролы лягушки даст структуры рта, но это будет не челюсть лягушки, а челюсть саламандры. Позиционная информация обладает специфичностью (рот, а не брюхо), но то, каким образом используют клетки эту информацию для своей дифференцировки (развитие балансиров, а не присосок), определяется наследственными свойствами клеток. В сходном эксперименте на зародышах дрозофилы группа клеток позднего имагинального диска ноги, в норме формирующая среднюю часть ноги, после трансплантации в центр диска антенны, клетки которого в норме дают концевую часть антенны, сформирует после выворачивания диска не дистальные структуры антенны, а коготки (концевую часть *ноги*). Специ-

фикация положения (середина или конец) не связана с **детерминацией** клеточного типа (нога или антенна). Поэтому на модели Волперта реципрокные пересадки участков французского и американского флагов сохраняют идентичность этих участков (т. е. французский или американский), но приобретут специфику (цвет) в соответствии со своей новой позиционной спецификацией.

Градиенты должны быть «прочитаны» клетками, и эта интерпретация градиентов не должна быть линейной. Возьмем, к примеру, серию экзаменационных оценок от 100 до 60. По одной схеме («линейное» чтение) ступень от 100 до 90 обозначается как А, от 80 до 89 — как Б, от 70 до 79 — как В, от 60 до 69 — как Г. По другой схеме (чтение «по кривой») ступень от 100 до 95 — А, от 95 до 85 — Б, от 84 до 70 — В и от 69 до 60 — Г. Помимо одноградиентной модели была предложена двухградиентная модель, при помощи которой ученые попытались объяснить образование рисунка, имитирующего глаз на крыльях бабочки (Nijhout, 1981). Один градиент представлен линейной диффузией морфогена. Второй градиент

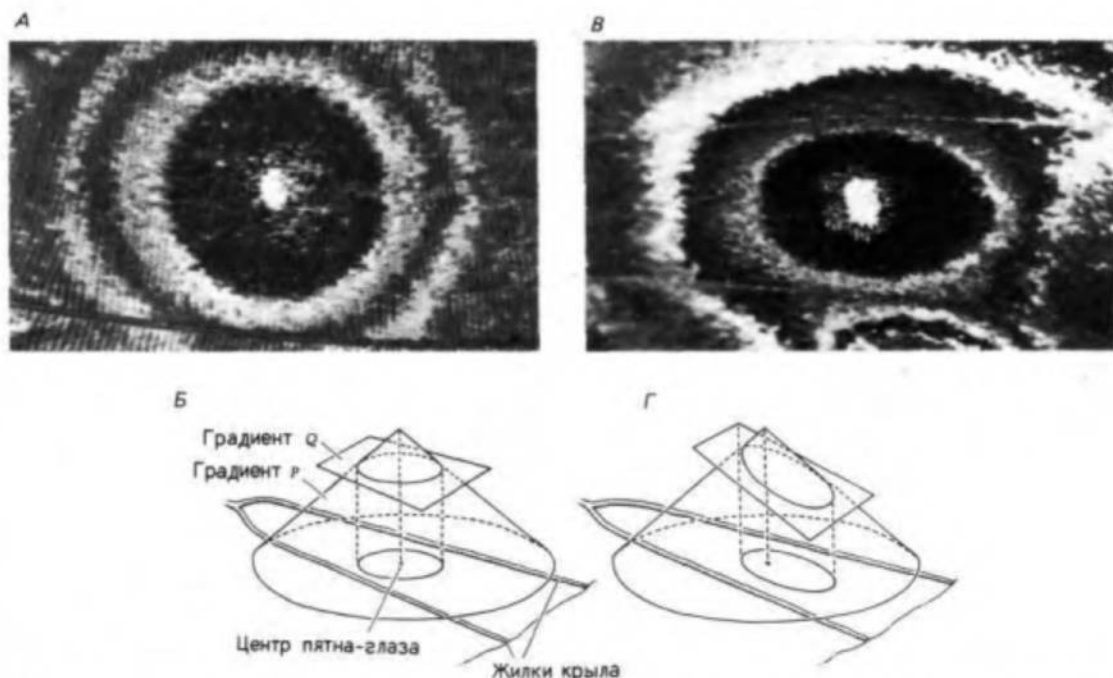


Рис. 17.2. Градиентная модель позиционной информации, предложенная для объяснения образования узора на крыльях бабочки. А. Фотография пятна-глаза на крыле бабочки *Morpho peleides*. Б. Схема двухградиентной модели, с помощью которой можно объяснить формирование пятна-глаза. Трехмерная форма линейного градиента (т. е. равномерная химическая диффузия во всех направлениях) представляет собой конус (градиент Р), высота которого отражает концентрацию сигнала. Источник сигнала — вершина конуса, которая соответствует центру развивающегося пятна-глаза. Концентрация Q представляет собой уровень вещества, необходимый для достижения порога чувствительности для появления того или иного цвета в клетках крыла. Если чувствительность одинакова по всему крылу, то конус будет рассечен перпендикулярно, в результате чего образуется круглое пятно-глаз. В. У других видов, например у *Smayna blomfieldia* пятна-глаза имеют эллипсоидную форму. Г. Причиной образования подобного эллипсоидного рисунка может быть разница в направлениях градиента чувствительности Q. (По Nijhout, 1981.)

включает интерпретацию этого морфогена; другими словами, порог чувствительности участвующих клеток различается в разных областях крыла. Участие второго градиента выражается в том, что образуются не только круглые пятна, но и пятна эллипсоидной формы (рис. 17.2).

Градиенты у гидры

Развитие гидры может служить иллюстрацией того, как взаимодействующие градиенты детерминируют и судьбу клеток, и размеры организма. Род *Hydra* получил свое название по имени мифического чудовища, способного восстанавливать отрезанные у него головы. Гидры могут размножаться половым путем, но приступают к половому размножению только при неблагоприятных условиях, например при большой скученности или отсутствии пищи¹. В обычных условиях им свойственно бесполое размножение путем почкования (рис. 17.3). По сути дела, гидра представляет собой узкую трубку, стенка которой состоит из двух слоев клеток; между этими эпителиальными листками находится слой внеклеточного матрикса. Для гидры характерна апикобазальная полярность. Базальный конец представлен секретирующим слизь **базальным диском**, с помощью которого гидра прикрепляется к субстрату. На апикальном конце головы располагается **гипостом**, в центре которого находится рот, окруженный венчиком щупалец. Между гипостомом и базальным диском располагается колонка тела. Почка формируется в виде выростов стенки тела и имеют ту же полярность, что и родительская особь.

Если гидру перерезать пополам, то половина, содержащая базальный диск, сформирует новый гипостом, а половина, содержащая гипостом, сформирует новый базальный диск. Более того, если гидру разрезать на несколько частей перпендикулярно оси тела, то средние кольца ткани регенерируют с образованием полных, пропорционально более мелких, но нормальных животных с гипостомами и базальными дисками. Эти части замещаются не в результате клеточных делений (как это происходит при регенерации конечности или имажинальных дисков у амфибий), а в результате перераспределения и изменения спецификации существующих клеток взрослого организма. Такой тип регенерации, происходящий без клеточных делений, называется **морфаллаксисом**. Итак, любая область тела гидры может дать начало целому организму. Однако гипостомы не формируются где попало: они могут



Рис. 17.3. Почкование у *Hydra pirardi*. У гидры слева почка нет; у правой гидры отчетливо видна поляризованная почка. (Фотография с любезного разрешения G. E. Lesh-Laurie.)

сформироваться только на апикальном конце фрагмента. Эта ситуация напоминает «гармонический эквипотенциальный» зародыш морского ежа, и механизм, обуславливающий интеграцию тотипотентных частей в единое поляризованное целое, может быть весьма схож. В обоих случаях пространственная информация, по-видимому, обеспечивается серией градиентов, возникающих на обоих полюсах.

О наличии морфогенетических градиентов у гидры свидетельствуют эксперименты по трансплантации. Если ткань гипостома пересадить в среднюю часть другой гидры, то она сформирует новую апикобазальную ось с направленным наружу гипостомом (рис. 17.4). Если таким же образом трансплантировать ткань базального диска, то сформируется новая ось, но уже с противоположной полярностью — с базальным диском наружу. Более того, если клетки с обоих полюсов вместе трансплантировать гидре-хозяину, то образующаяся почка не будет обладать никакой полярностью (Browne, 1909; Newman, 1974). Другие эксперименты показали (Rand et al., 1926), что нормальная регенерация гипостома может быть подавлена, если вблизи места ампутации имплантировать интактный гипостом.

Интерпретация этих экспериментов связана с представлениями о существовании и градиента активатора головы, и градиента ингибитора головы (Webster, Wolpert, 1966; MacWilliams, 1983a, b). **Градиент активатора головы** можно измерить путем

¹ Показано (Littlefield C. L., Finkemeier C., Bode H. R., 1991), что основным регулятором перехода к гаметогенезу у *H. attenuata* служит сезонное понижение температуры; для лабораторной культуры — от 18–22 °C до 10–12 °C. — Прим. перев.

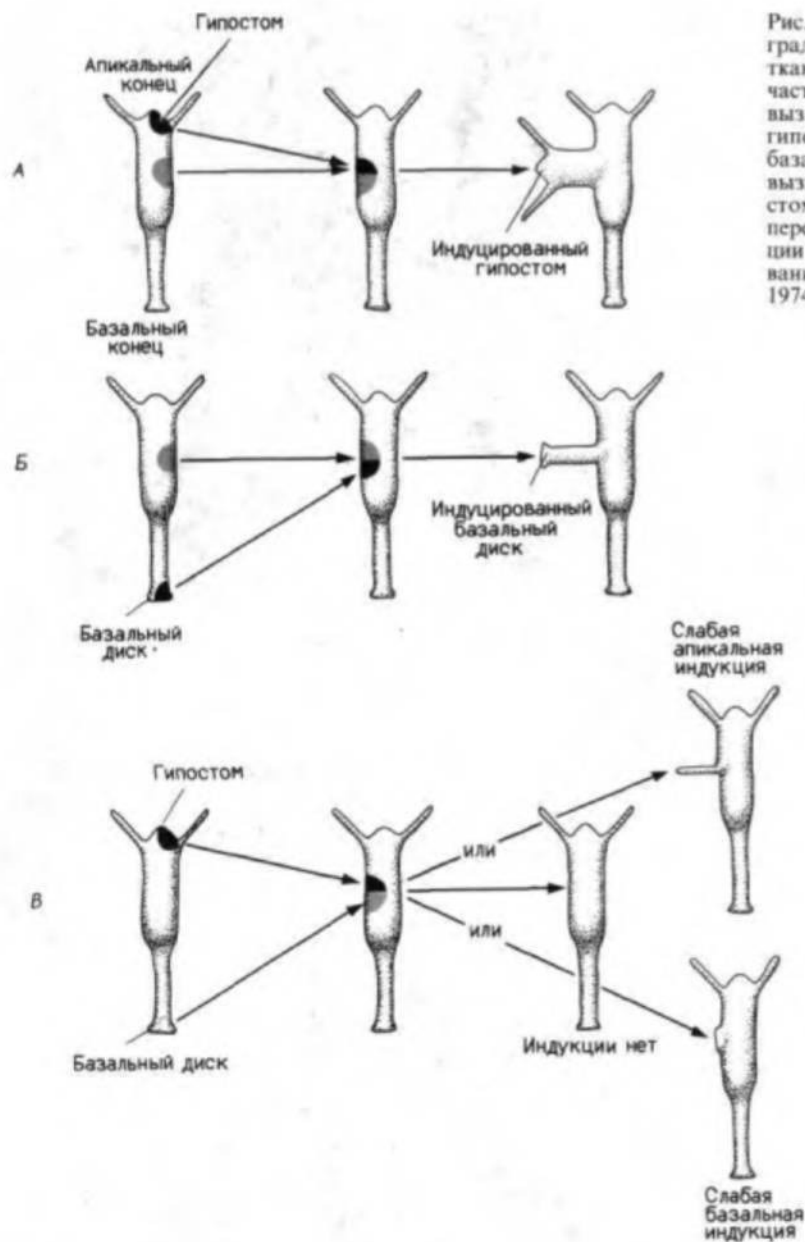


Рис. 17.4. Данные, свидетельствующие о наличии градиентов у гидры. *А.* Латеральная имплантация ткани гипостома вместе с тканью из средней части тела донора в среднюю часть тела хозяина вызывает апикальную индукцию (развитие гипостома). *Б.* Совместная пересадка области базального диска и ткани из середины тела вызывает индукцию базального диска. *В.* Гипостом вместе с областью базального диска, пересаженные латерально, не вызывают индукции или вызывают незначительное новообразование без отчетливой полярности. (По Newman, 1974.)

имплантации кольцеобразных фрагментов с разных уровней гидры-хозяина в определенную область туловища хозяина. Чем выше уровень активатора головы в донорской ткани, тем чаще имплантации завершаются формированием гипостомов. Таким образом было показано, что в наивысшей концентрации этот активирующий фактор содержится на апикальном конце и линейно снижается по направлению к базальному. Этот градиент очень устойчив и, вероятно, отвечает за формирование гипостома на апикальном конце гидры. Несмотря на то что

любая часть гидры может сформировать голову, этого на самом деле не происходит. Дополнительные головы не образуются потому, что имеющаяся голова является источником ингибирующего влияния, предотвращающего формирование других голов. Этот **градиент ингибитора головы** измерен путем имплантации субгипостомальной ткани (имеющей относительно высокую концентрацию активатора головы) в разные области вдоль тела гидры-хозяина. Чем сильнее ингибирование на данном уровне гидры-хозяина, тем меньшее число транс-

плантатов сформируют головы. Источник этого градиента ингибитора – также гипостом, но ингибирующий фактор, очевидно, представлен очень лабильными и легко диффундирующими молекулами. Он препятствует формированию головы в любом другом месте только при наличии интактной головы. Таким образом, если есть голова, то функционируют оба градиента, но если голова удалена, то лабильный ингибитор исчезает. В результате на дистальном конце кусочка гидры появляется голова (Webster, 1966; Wilby, Webster, 1970). Базальный диск также представляется источником двух градиентов, один из которых активирует развитие подошвы (MacWilliams, Kafatos, 1974; Hicklin, Wolpert, 1973; Grimmelikhuijzen, Schaller, 1977), а другой ингибирует ее (Schmidt, Schaller, 1976). Вещества, возможно служащие активатором и ингибитором, были выделены (Schaller et al., 1979; Berking et al., 1979), и локализация этих небольших молекул находится в соответствии с градиентной гипотезой.

У молодых сформированных гидр градиенты ингибиторов головы и подошвы, по-видимому, блокируют формирование почек. Однако по мере роста гидры источники этих лабильных градиентов все более удаляются друг от друга, образуя в нижней трети туловища область, где оба ингибитора представлены в минимальном количестве. Именно здесь и происходит почкование (рис. 17.5) (Bode, Bode, 1984). Известны мутации, лишаящие гидру способности формировать почки; при этом нарушения можно проследить до дефектов в градиентах. Так, мутант L4 у *H. magnipapillata* почкуется очень медленно и лишь по достижении размеров, почти вдвое превышающих длину особей дикого типа. Было обнаружено, что в количественном отношении ингибирующая голову активность этих мутантов значительно выше, чем у гидр дикого типа (Takano, Sugiyama, 1983). Таким образом, выявляется корреляция между размерами животного, местом формирования почек и силой ингибиторных градиентов.

Эти градиенты у взрослого животного могут играть дополнительную роль. Несмотря на то что все клетки гидры делятся постоянно, размеры взрослой гидры не увеличиваются. Результаты исследований с применением меченых клеток показали, что эпителиальные клетки постоянно движутся вверх и вниз к полюсам, где и утрачиваются. По мере того как они смещаются к голове или базальной пластинке, они начинают выполнять новые функции и синтезировать новые вещества (Campbell, 1967; Javois et al., 1986). Возможно, градиенты информируют мигрирующие клетки об их положении в теле животного.

При том, что интеграция небольшого поля теоретически может контролироваться диффундирующими веществами, которые образуют градиенты (Crick, 1970), должен существовать некий механизм, гарантирующий, что морфоген не диффундирует в среду или в гастро-васкулярную полость полипа. Уэйкфорд (Wakeford, 1979) показал, что позиционная информация от пересаженных гипостомов сообщается хозяину лишь в том случае, если между клетками хозяина и донора формируются щелевые контакты. Более поздние эксперименты с трансплантациями (Fraser et al., 1987) выявили подавление градиента ингибирования головы антителами против белков щелевых контактов. Таким образом, кажется вполне вероятным, что морфоген переносится от клетки к клетке посредством этих контактов, а не просто путем диффузии через примитивную кишку или циркуляторную систему гидры. Несмотря на то что некоторые из этих соединений выделены, механизм их действия остается не известным.

Регенерация конечности: модель полярных координат позиционной информации

Установление позиционной информации путем градиентов предполагает, что полипотентная клеточная популяция будет дифференциально реагировать на различия в концентрациях растворимого морфогена. Эта модель объясняет формирование пространственной организации у развивающихся животных, подобных гидре, и у животных, претерпевающих морфаллактическую регенерацию. Однако пространственное формирование органов, подвергающихся **эпиморфической регенерации**, по-видимому, создается иным типом позиционной информации. При этом в отличие от морфаллаксиса регенерация включает пролиферацию новых клеток. Все это можно наблюдать на примере регенерирующей конечности у хвостатых амфибий.

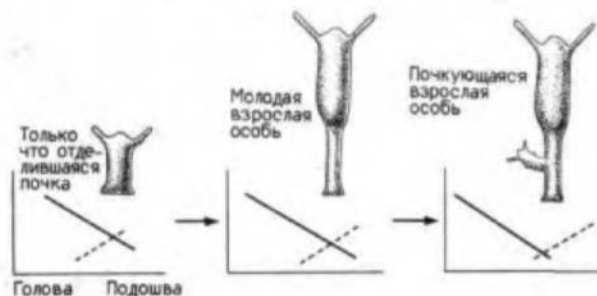


Рис. 17.5. Градиенты ингибирования головы (сплошная линия) и ингибирования подошвы (штриховая линия) у только что отделившейся почки, молодой сформированной гидры и у взрослой почкующейся гидры. (По Bode, Bode 1984.)

Регенерация конечностей у саламандры

Если ампутировать конечность у саламандры, то оставшиеся клетки способны восстановить конечность со всеми ее дифференцированными клетками, расположенными в соответствующем порядке. Замечательно не только то, что конечность регенерирует, но и то, что оставшиеся клетки сохраняют информацию, обуславливающую спецификацию их положения и положения клеток, которые удалены. Другими словами, новые клетки дают только утраченные структуры и не более того; например, при удалении запястья у саламандры формируется новое запястье, а не новое предплечье (рис. 17.6).

После ампутации с краев культи начинают мигрировать эпидермальные клетки, покрывая раневую поверхность. Затем происходит пролиферация этого однослойного эпителия, в результате чего образуется **апикальная эктодермальная шапочка**¹. Клетки под шапочкой претерпевают глубокую дедифференцировку: костные, хрящевые и нервные клетки, фибробласты, миоциты утрачивают признаки, характерные для их дифференцированного состояния и обособляются друг от друга. В результате на месте хорошо структурированной области культи на границе разреза непосредственно под апикальной эктодермальной шапочкой формируется пролиферирующая масса неотличимых друг от друга дедифференцированных клеток. Эта масса дедифференцированных клеток называется **регенерационной бластемой**; клетки этой бластемы продолжают пролиферировать и дифференцироваться с образованием новых структур конечности. Если разрушить клетки бластемы, то регенерации не происходит (Butler, 1935). Более того, дедифференцируясь при образовании бластемы, клетки вновь приобретают свою эмбриональную пластичность. Карлсон (Carlson, 1972) показал, что если из только что ампутированной конечности саламандры удалить даже 99% мышечных клеток, то регенерирующая конечность будет иметь нормальный набор мышц, занимающих соответствующее положение. Таким образом, иные клетки бластемы, а именно клетки, происходящие из немышечной ткани, должны быть способны формировать мышцы регенерирующей конечности.

В большинстве случаев, однако, для формирования конечности необходима нервная ткань. Было показано (Singer, 1954), что для осуществления регенерации необходим определенный минимум нервных волокон. Предполагается, что нейроны выделяют фактор, стимулирующий митоз и увеличи-



Рис. 17.6. Регенерация передней конечности у саламандры. Вверху представлены intactные конечности. Слева располагается ряд, позволяющий проследить регенерацию конечности после ампутации ниже локтевого сустава; справа — результат ампутации в области плеча. В обоих случаях восстанавливается правильная позиционная информация. (Из Goss, 1969; с любезного разрешения R.J. Goss.)

вающий пролиферацию клеток бластемы (Singer, Caston, 1972; Mescher, Tassava, 1975). Один из кандидатов на роль этого нейтрального вещества с критическим действием — **фактор роста глии (ФРГ)**. Известно, что этот пептид, продуцируемый нервными клетками тритона, присутствует в бластеме и утрачивается при ее денервации. Если добавить ФРГ к денервированной бластеме, то клетки с заблокированными митозами вновь приобретают способность к делению (Brockes, Kinter, 1986).

Итак, мы имеем дело с ситуацией, когда клетки взрослого организма возвращаются в «эмбриональное» состояние и могут приступить к формированию конечности заново. Как и при эмбриональном развитии, бластема формирует более дистальные структуры (Rose, 1962). Следовательно, бластема должна обладать некоторой позиционной информацией, заставляющей бластему культи, содержащей плечевую кость, не создавать другого плеча, ни тотчас же приступить к образованию пальцев. Бластема регенерирует эти структуры не только начиная с нужного проксимодистального уровня конечности, но при этом сохраняется и полярность переднезадней («большой палец — мизинец») и дорсовентральной

¹ Здесь уместнее использовать термин «апикальная эпителиальная шапочка» в отличие от «апикального эктодермального гребня», употребляемого для обозначения гомологичной структуры, формируемой эктодермой почки конечности в эмбриогенезе. — Прим. перев.



Рис. 17.7. Эксперимент с поворотом бластемы конечности. Если регенерационную бластему конечности отрезать и повернуть на 180° по отношению к телу, то сформируются зеркально-симметричные сверхчисленные пальцы. (По Tickle, 1981.)

(«запястье—ладонь») осей, соответствующих культе.

Полярность регенерирующих конечностей может быть нарушена путем совмещения тканей, в норме не соседствующих друг с другом. Поскольку трансплантацию небольших фрагментов бластемы производить достаточно сложно, этот эксперимент осуществляют путем поворота бластемы относительно культы. Если бластему конечности повернуть на 180° и срастить с культей, то регенерировавшая конечность часто содержит сверхчисленные структуры, что очень сходно с результатом аналогичной операции на развивающейся почке конечности (рис. 17.7) (Bryant, Iten, 1976).

Если механизмы формирования пространственной организации для развивающейся и регенерирующей конечностей одни и те же, то развивающаяся конечность должна реагировать на трансплантацию ткани регенерирующей конечности и наоборот. На примере амбистомы (*Ambystoma mexicanum*) было продемонстрировано (Muneoka, Bryant, 1982), что это действительно так. Если почки конечности трансплантируют на культю с регенерационной бластемой при сохранении первоначальной полярности по отношению к культе, то развиваются нормальные конечности. Однако если полярность переднезадней оси инвертирована по отношению к культе, то формируются сверхчисленные зеркально-отраженные пальцы (рис. 17.8). Эти результаты убедительно свидетельствуют о том, что правила формирования пространственной организации для развивающихся конечностей те же, что и для регенерирующих.

Модель полярных координат

На основе сравнительного изучения эпиморфической регенерации конечностей позвоночных, конечностей насекомых и имагинальных дисков насе-

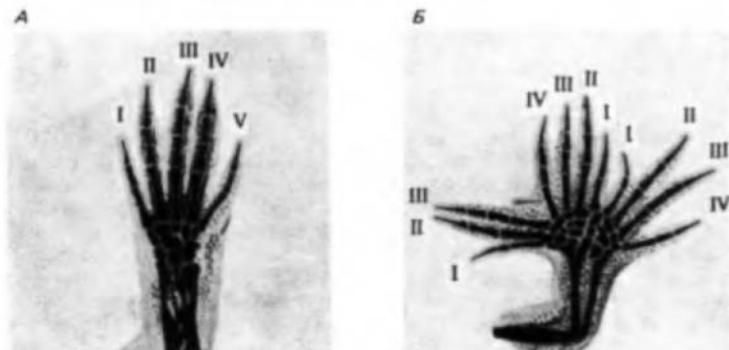


Рис. 17.8. Регуляция роста регенерационной бластемы конечности хвостатой амфибии зоной прогресса развивающейся почки конечности. А. Если почку правой задней конечности пересадить на культю правой регенерирующей задней конечности без поворота, то развивается нормальная пятипалая задняя конечность. Б. Если трансплантат почки левой задней конечности поместить на культю правой регенерирующей задней конечности, то сформируется anomальная 11-палая конечность. При этом происходит инверсия переднезадних осей хозяина и трансплантата. (Из Muneoka, Bryant, 1962; с любезного разрешения К. Muneoka.)

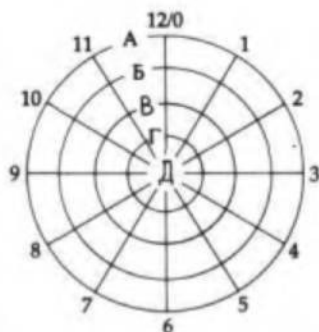


Рис. 17.9. Модель полярных координат, используемая для объяснения спецификации позиционной информации. Каждая клетка обладает двумя позиционными значениями: по окружности (0–12), т.е. по отношению к переднезадней оси, и по радиусу (А–Д), символизирующему проксимодистальную ось. (Из French et al., 1976.)

комых Френч и др. (French et al., 1976; Bryant et al., 1981) предложили ряд эмпирических правил, предсказывающих результат разнообразных экспериментальных манипуляций с регенерирующими придатками. Эти авторы исходили из посылки Волперта (Wolpert, 1969), согласно которой пространственная организация возникает на основе узнавания клетками своего относительного положения в развиваю-

щейся популяции. Следовательно, по мнению Френча и его коллег, клетка определяет свое физическое положение в системе полярных (подобных циферблату часов) координат (рис. 17.9). В этой системе каждая клетка обладает определенным значением как по окружности (от 0 до 12), так и по радиусу (от А до Д). В случае регенерирующей конечности внешняя окружность представляет проксимальную (плечо) границу поля конечности, а центральная – наиболее дистальные области.

Как мы уже видели, приведение в контакт тканей, в норме не контактирующих друг с другом, но относящихся к одному и тому же полю, вызывает появление дупликаций. Если же ткани не соответствуют одному и тому же полю, то дупликация не возникает. Модель полярных координат оказывается исключительно удобной для предсказания степени дупликации соответствующих структур. **Правило кратчайшей интеркаляции** гласит, что если две в норме не соседствующие клетки совместить, то в месте их соединения начнется рост, продолжающийся до тех пор, пока клетки между этими двумя точками не приобретут все позиционные значения, первоначально существовавшие между исходными точками (рис. 17.10). Последовательность точек на окружности, как и на циферблате, непрерывна, так

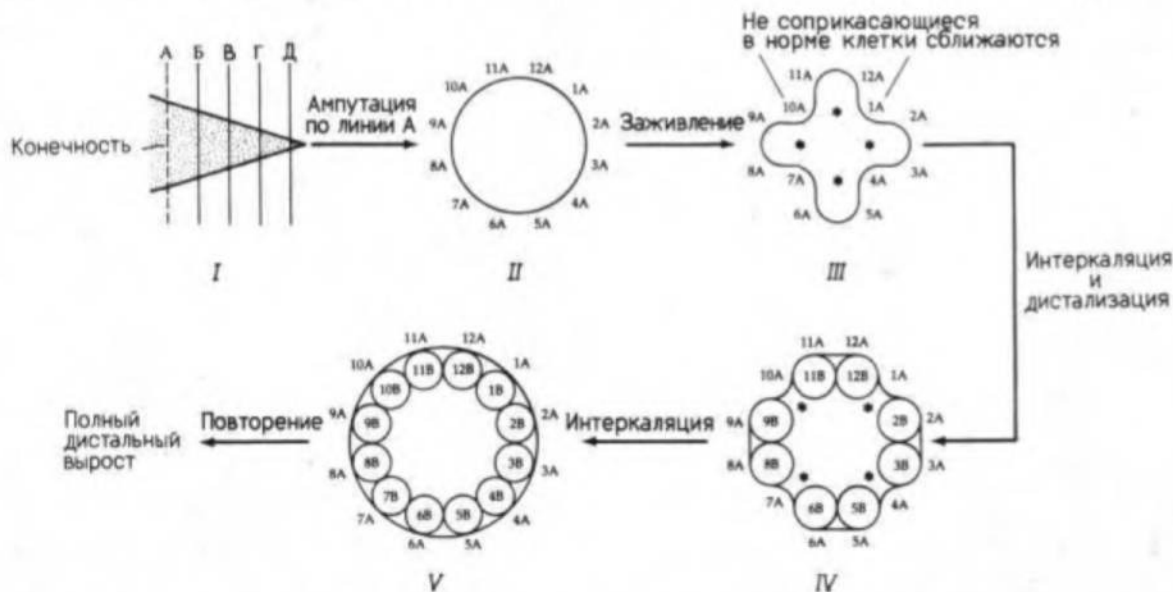


Рис. 17.10. Модель дистального роста. I, II. Конечность перерезана по линии А, проксимально по отношению к Б–Д. Эта ампутация экспонирует позиционные значения по окружности А. III. Заживление приводит к тому, что не контактирующие в норме клетки (например, 10А и 1А) сближаются у верхушки blastемы. Клетки на границе сблившихся тканей пролиферируют и приобретают позиционную спецификацию, соответствующую их промежуточному положению. Вместе с тем эти клетки соседствуют с обычно находящимися здесь клетками, разделяя с ними одни и те же позиционные значения на окружности. В соответствии с «правилом дистализации», эти клетки приобретают более дистальное позиционное значение. IV, V. Затем происходит интеркаляция этих получивших новую спецификацию клеток (в местах, помеченных звездочками), что приводит к образованию новой поверхности, на которой представлены все значения по окружности. Эта схема повторяется до тех пор, пока не сформируется полная конечность. (По Bryant et al., 1981.)

что 0 равен 12 и не имеет собственного значения. Однако интеркаляция (вставка) между двумя точками на окружности может происходить двумя путями. Если, например, клетки со значениями 4 и 7 поместить рядом, то имеются два возможных пути заполнения промежутка между ними: 4, 5, 6, 7 и 4, 3, 2, 1, 12, 11, 10, 9, 8, 7. В соответствии с моделью выбирается кратчайший путь. Существуют, конечно, исключения, когда клетки обладают значениями, располагающимися в системе координат точно друг против друга; в этом случае кратчайшего пути нет, между противоположащими клетками могут формироваться все структуры.

Второе правило — **правило полного круга для дистальной трансформации**. Как только на раневой поверхности устанавливается полный круг позиционных значений, клетки начинают пролиферировать и давать более дистальные структуры. Механизм, с помощью которого, как полагают, все это происходит, схематически представлен на рис. 17.10; он касается и интеркаляции структур между клетками, обладающими различной позиционной информацией (Bryant et al., 1981). Предсказательная ценность этих правил очевидна в случаях трансплантации между регенерационными бластами при условии инверсии переднезадней оси (рис. 17.11). Результа-

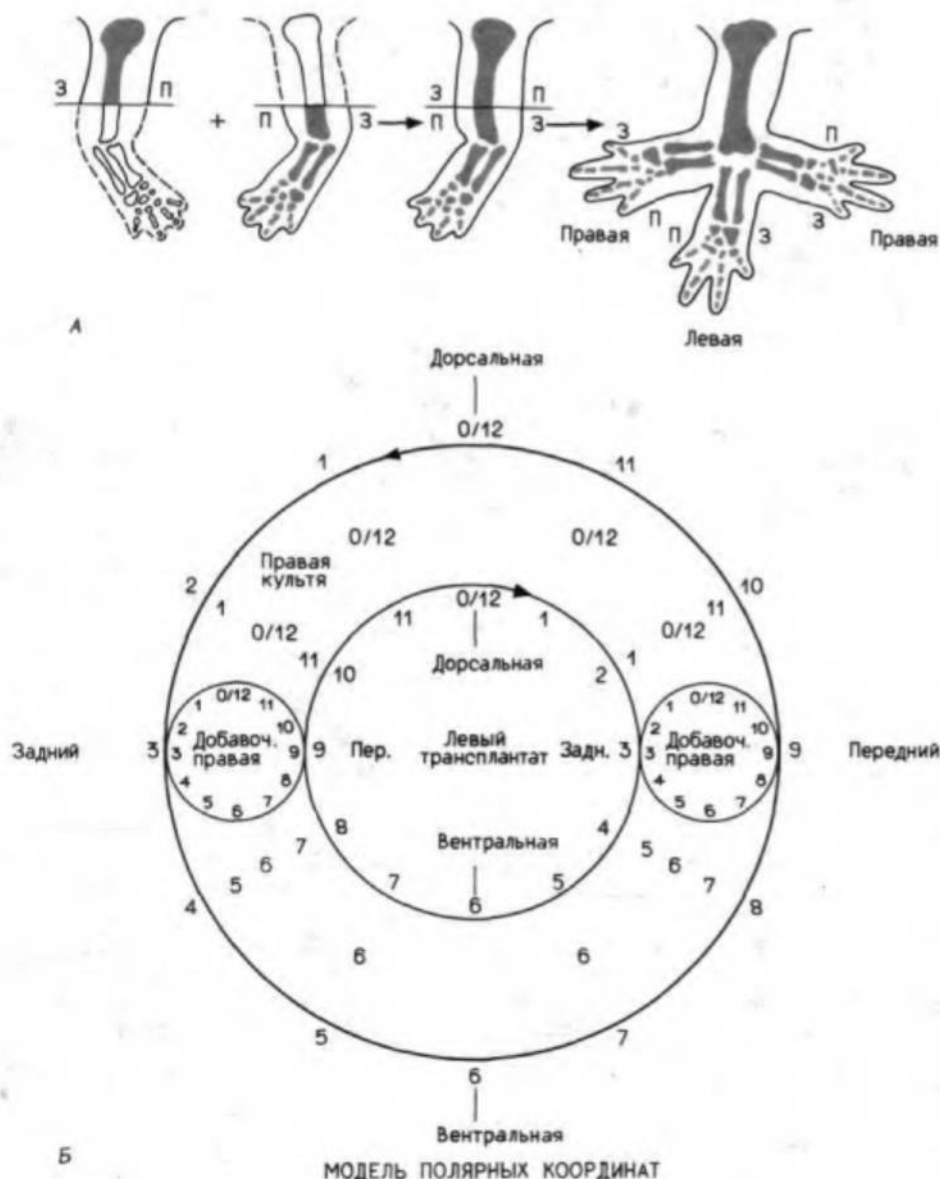


Рис. 17.11. Инверсия переднезадней оси в регенерационной бластеме тритона. А. В результате пересадки бластемы левой задней конечности на культю правой задней конечности возникают три набора дистальных структур (ср. с рис. 17.8, Б). Б. Этот результат может быть предсказан на основе модели полярных координат, в соответствии с которой в дополнение к унаследованным значениям в трансплантированной ткани регенерируют два полных набора промежуточных значений. (По French et al., 1976.)

том такой трансплантации оказывается формирование конечности с тремя дистальными концами (Iten, Bryant, 1975). Это явление можно объяснить, представив на соответствующей координатной плоскости переднезаднюю ось под двумя противоположными номерами, — скажем, 3 и 9. При совмещении значений 3 и 9 образуется полный круг значений на каждом из концов этой оси и небольшие вставочные серии в других местах. В результате получаются три полных круга, которые, по закону дистальной трансформации, дадут три полных конечности, отрастающие от этой позиции дистально.

Модель полярных координат позволяет также предсказать эффект регуляции в случае утраты части ткани. Вследствие того что новообразованные клетки имели бы позиционные значения, промежуточные по отношению к таковым оставшихся клеток, будет восстанавливаться недостающая часть ткани. Можно полагать, что поскольку в основе регенерации лежит узнавание различий между соседствующими тканями, эпиморфическое формирование пространственной организации в ходе регенерации и нормальное формирование пространственной организации в ходе развития эмбриональной конечности являются скорее результатом близких взаимодействий между соседними клетками, чем результатом градиентов дальнего действия (Bryant et al., 1981).

Формирование пространственной организации в ходе развития конечностей: спецификация осей

Модель полярных координат оказалась исключительно полезной для предсказания хода развития конечности после приведения в контакт клеток, спецификация которых уже произошла. Но что придает клеткам их первоначальное позиционное значение? Полученные в последнее десятилетие данные свидетельствуют о том, что в почке эмбриональной конечности работают градиенты. Конечность позвоночного представляет собой исключительно сложный орган с асимметричной пространственной организацией частей. Кости передней конечности, будь то крыло, рука, лапа или плавник, состоят из плечевой кости (прилежащей к туловищу), лучевой и локтевой костей в средней части и дистальных костей запястья и пальцев (рис. 17.12). Исходно скелет передней конечности представлен хрящевыми структурами, которые позднее замещаются костью. Организацию конечности, а именно положение каждого из ее костей или мышц, можно признать практически совершенной. Что толку в конечности, если пальцы будут расположены между плечом и предплечьем. Полярность можно обнаружить и в других измерениях. Так, каждая рука человека развивается в виде



Рис. 17.12. Скелет крыла курицы. Пальцы пронумерованы в соответствии с общепринятыми обозначениями: II, III, IV. Пальцы I и V в крыле курицы отсутствуют. (По Saunders, 1982.)

зеркального отражения другой. Возможна и иная организация, например развитие больших пальцев на левой стороне обеих рук, однако это не является общим правилом. Так или иначе, но обычно формируется трехмерная организация передней конечности.

Поле конечности

Мезодермальные клетки, дающие начало конечности позвоночного, могут быть идентифицированы несколькими способами: 1) можно удалить те или иные группы клеток и затем наблюдать развитие конечности в условиях их отсутствия (Detwiler, 1918; Harrison, 1918); 2) можно трансплантировать те или иные группы клеток в новые положения и наблюдать, смогут ли они дать начало конечности (Hertwig, 1925); 3) можно маркировать группы клеток красителями или радиоактивными предшественниками макромолекул и наблюдать, какие из потомков маркированных клеток примут участие в развитии конечности (Rosenquist, 1971). Использование этих методов позволило точно локализовать область проспективной конечности у зародышей многих позвоночных. На рис. 17.13 представлена область проспективной конечности у хвостатой амфибии *Ambystoma maculatum* на стадии хвостовой почки. Центр диска соответствует клеткам мезодермы боковой пластинки, в норме дающим собственно конечность. Рядом с ней располагаются клетки, которые сформируют перибрахиальную боковую ткань и плечевой пояс. Эти две области и составляют классический «диск конечности», используемый в экспериментах, на которые мы будем ссылаться в этой главе. Однако, если все эти клетки удалить, конечность у зародыша тем не менее образуется, хотя и несколько позже, за счет клеток, окружающих эту область. Если же удалить и эти клетки, то конечность не сформируется. Зона, включающая все

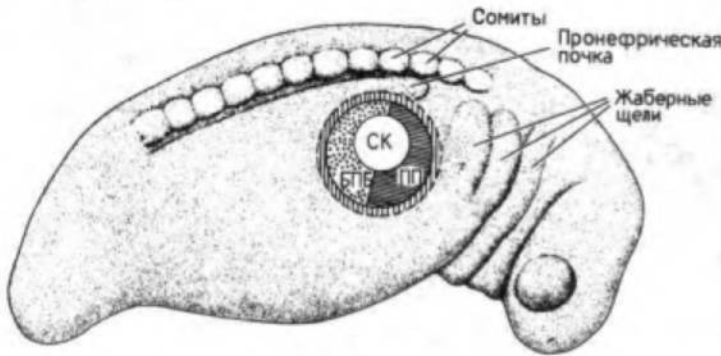


Рис. 17.13. Проспективная карта почки передней конечности *Ambystoma maculatum*. Центральная область представлена клетками, которые дадут начало свободной конечности (СК); клетки, окружающие СК, дадут начало боковой перибрахальной ткани (БПБ) и плечевому поясу (ПП). Клетки, располагающиеся снаружи от этих областей, но могут участвовать в регуляции ее формирования в случае экстирпации центральных тканей. (По Stokum, Fallon, 1982.)

клетки, способные к развитию конечности, называются **полем конечности**. Поле может быть определено как группа клеток, чье положение и судьба обладают спецификацией в пределах одних и тех же границ (Weiss, 1939; Wolpert, 1977).

Поле конечности обладает изначальной способностью к регуляции в случаях утраты или добавления частей. У *Ambystoma* на стадии хвостовой почки любая половина диска конечности при пересадке на новое место способна регенерировать всю конечность (Harrison, 1918). В этом свойстве диска конечности можно также убедиться в результате его вертикального рассечения на два или более сегментов, поместив при этом между сегментами тонкие прокладки, препятствующие их слиянию. В данном случае каждая часть даст полную конечность. Регуляционная способность почки конечности недавно была убедительно продемонстрирована в удивительном эксперименте, поставленном самой природой. В одном из прудов в Санта-Крус (Калифорния) в большом числе были обнаружены многочисленные лягушки и саламандры (рис. 17.14). Наличие у них дополнительных конечностей было связано с инвазией личинок паразитическими трематодами. По-видимому, во время закладки почки конечности головастики яйца этих трематод расщепляли ее зачаток в нескольких местах (S. Sessions, неопубликованные данные). Таким образом, поле конечности, как и ранний зародыш морского ежа, представляет собой «гармоническую эквипотенциальную систему», клетки которой инструктированы к формированию любой части конечности.

Поляризация вдоль оси конечности

Позиционная информация необходима для создания конечности, которая функционировала бы в трехмерной системе координат¹. По-видимому,

¹ В действительности это четырехмерная система, в которой время служит четвертой осью. Специалисты в области биологии развития привыкают воспринимать природу в четырех измерениях.

оси полярности детерминируются в такой последовательности: переднезадняя (соответствующая линии между большим пальцем и мизинцем), дорсовентральная (соответствующая линии между верхней и нижней поверхностями руки) и проксимодистальная (соответствующая линии, соединяющей плечо с кончиком пальца).

Первое изменение при переходе от полипотентного состояния состоит в самодифференцировке переднезадней оси. У куриного зародыша ее спецификация происходит задолго до того, как становится различимой почка конечности. Гамбургер (Hamburger, 1938) показал, что уже на стадии 16 сомитов мезодерма проспективного крыла, трансплантированная на бок зародыша, развивается в конечность с переднезадней и дорсовентральной полярностью донорского трансплантата, а не ткани хозяина (рис. 17.15).

Проксимодистальная ось устанавливается только после индукции апикального эктодермального



Рис. 17.14. Регуляционные возможности поля конечности, демонстрируемые на примере расщепления полей ранних задних конечностей головастика *Hyla* многочисленными яйцами трематод. (Фотография с любезного разрешения S. Sessions.)

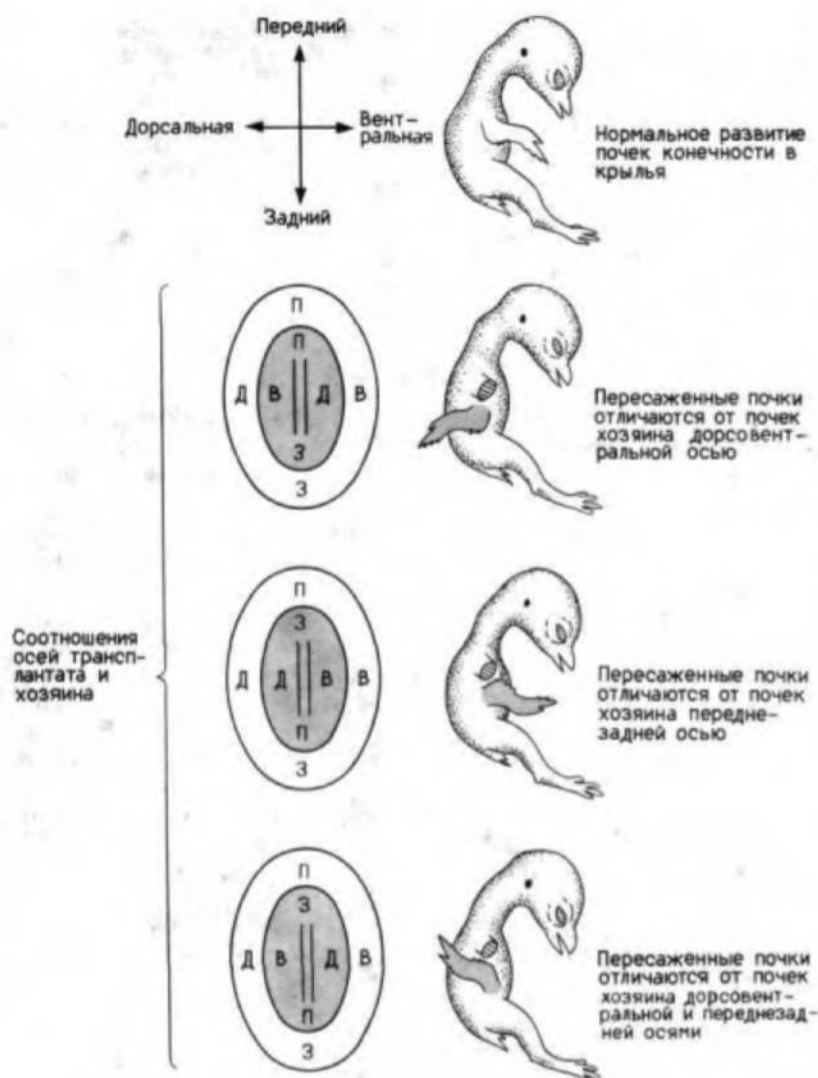


Рис. 17.15. Спецификация переднезадней и дорсовентральной осей крыла куриного зародыша. Пересаженная почка конечности развивается в соответствии со своей собственной полярностью и не воспринимает полярности хозяина. Крылья, развивающиеся из пересаженных почек конечностей, выделены серым цветом. Для того чтобы не перегружать рисунок, нормально развивающееся крыло хозяина не показано. (По Hamburger, 1938.)

гребня (АЭГ) подлежащей мезодермой. Удлинение конечности происходит благодаря пролиферации мезенхимных клеток, располагающихся под АЭГ. Эта область клеточных делений называется **зоной прогресса**. Клетки покидают зону прогресса, получив свои проксимодистальные значения. Первые клетки, вышедшие из зоны прогресса, формируют проксимальные структуры, те же клетки, которые в зоне прогресса многократно делятся, дают более дистальные структуры (Saunders, 1948; Summerbell, 1974). Поэтому если из ранней почки крыла удалить АЭГ, клетки зоны прогресса гибнут и в результате формируется лишь плечевая кость. Если АЭГ удалить несколько позже, формируются также лучевая и локтевая кости (рис. 17.16).

Носителем проксимодистальной полярности (как и двух других осей) служит мезодермальный

компаратмент конечности. Если бы АЭГ обеспечивал позиционную информацию, каким-то образом структурируя лежащую под ним недифференцированную мезодерму относительно структур, которые она должна формировать, то при пересадках более старого АЭГ на молодую мезодерму должны были бы образовываться более дистальные структуры. Однако этого не происходит (Rubin, Saunders, 1972), так как при комбинациях молодой мезодермы с АЭГ любого возраста формируется конечность с нормальной последовательностью структур. Но если всю зону прогресса, включая и мезодерму, от раннего зародыша пересадить на почку конечности зародыша более поздней стадии, то в дополнение к старым, уже имеющимся структурам, разовьются новые проксимальные. И наоборот, если старые зоны прогресса поместить в молодые почки конечности,

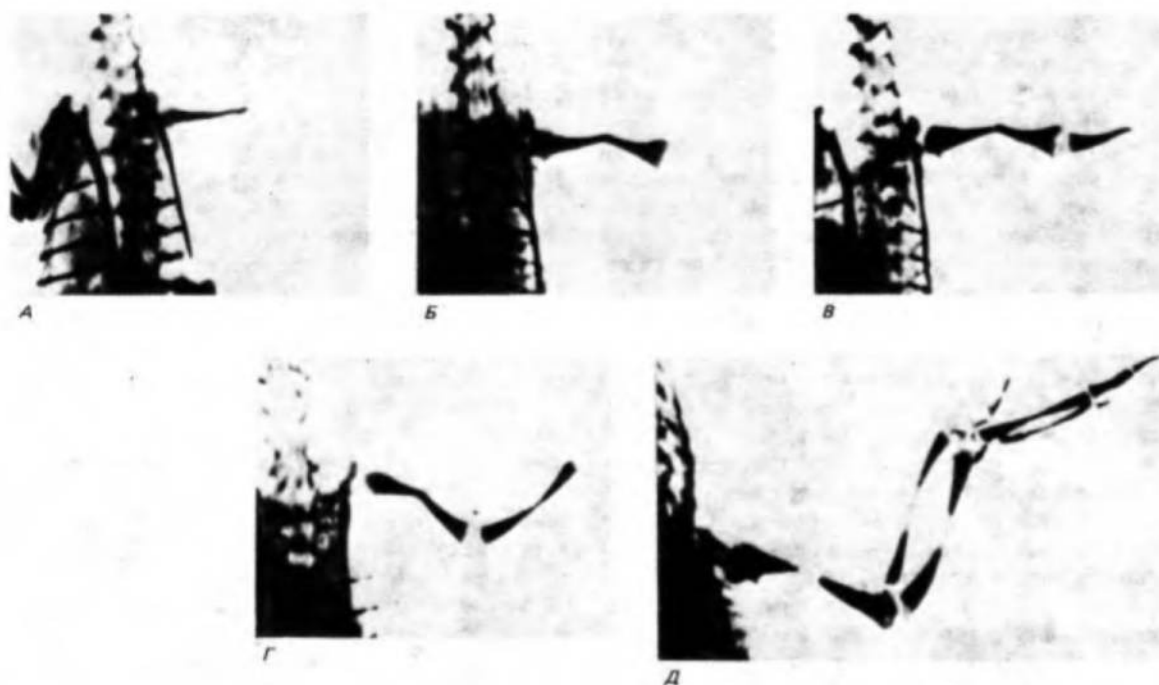


Рис. 17.16. Организация скелета (вид со спинной стороны) на разных стадиях развития куриного зародыша после полного удаления с почки крыла апикального эктодермального гребня (А–Г). Д. Нормальный скелет крыла. (Из Iten, 1982; с любезного разрешения L. Iten.)

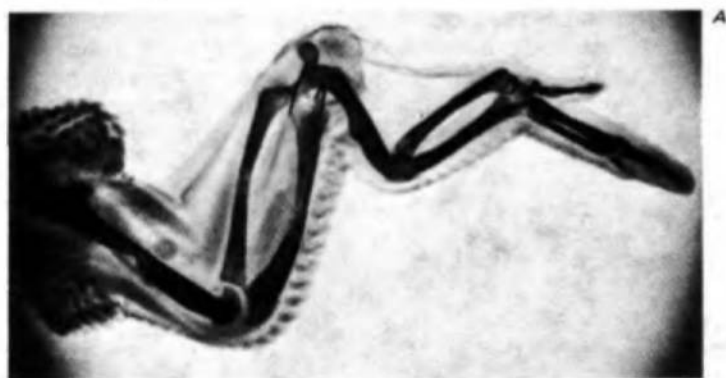


Рис. 17.17. Контроль проксимодистальной спецификации клетками зоны прогресса (ЗП). А. Дополнительный набор лучевой и доктовой костей, сформированный в результате трансплантации ЗП ранней почки на позднюю почку крыла, где уже сформировались эти кости. Б. Отсутствие промежуточных структур в результате трансплантации ЗП поздней почки конечности на раннюю почку конечности. Скобами отмечено положение трансплантата. (Из Summerbell, Lewis, 1975; с любезного разрешения D. Summerbell.)

то будут формироваться дистальные структуры, т. е. непосредственно за плечевой костью будут располагаться пальцы, а не лучевая и локтевая кости (рис. 17.17). (Summerbell, Lewis, 1975).

Несмотря на то что дифференцировка проксимодистальных структур зависит, предположительно, от числа делений клеток в зоне прогресса, позиционная информация, инструктирующая клетку о ее положении на переднезадней или дорсовентральной осях, должна происходить из других источников. Одна из серий экспериментов (Saunders, Gas-seling, 1968; Tickle et al., 1975; Summerbell, 1979) доказала, что переднезадняя ось специфицируется небольшим объемом мезодермальной ткани, располагающейся вблизи задней границы между молодой почкой конечности и стенкой тела. Если эту ткань молодой почки конечности трансплантировать в положение на передней стороне другой почки конечности (рис. 17.18), то число пальцев в сформированном крыле удвоится. Кроме того, дополнительный набор пальцев окажется зеркальным отражением нормального набора. Полярность сохраняется, но информация теперь идет как спереди, так и сзади. Эта область мезодермы была названа **зоной поляризующей активности (ЗПА)**.

Распределение и сила активности позиционного сигнализирования ЗПА почек крыла и ноги куриного зародыша были картированы (Honig, Summerbell, 1985; Hinchliffe, Sansom, 1985). Как показано на рис. 17.19, поляризующая активность (измеренная путем пересадок задних маргинальных клеток на передний край почки конечности) наиболее высока в определенной области заднего края и постепенно снижается по мере удаления от нее. Она также

ослабевает по мере развития. Было высказано предположение, что ткань ЗПА воздействует путем секреции морфогена, который диффундирует от своего источника, образуя в почке конечности градиент концентрации от ее заднего к переднему концу. Клетки, наиболее близко расположенные к ЗПА, будут подвергаться действию наибольших количеств этого соединения, тогда как клетки, наиболее удаленные от ЗПА, окажутся под действием относительно низких его концентраций. Первое подтверждение этой гипотезы было получено в результате серии экспериментов (Summerbell, 1979), в которых передняя часть почки конечности была отделена от задней части почки непроницаемым барьером. В этих условиях передние структуры не формировались. Интерпретация этих результатов связывалась с ЗПА, которая секретирует морфоген, организующий в почке конечности переднезадний градиент; передние структуры не могли формироваться по той причине, что не получали морфогена (рис. 17.20).

Имеются и другие данные, свидетельствующие о том, что ЗПА синтезирует (или активирует) диффундирующий морфоген. Поляризующая активность ЗПА может быть ослаблена в результате уменьшения числа клеток, пересаживаемых из ЗПА на передний край (Tickle, 1981). Позже Тикл и др. (Tickle et al., 1982, 1985) смогли имитировать активность ЗПА действием известного диффундирующего вещества — *транс*-ретиноевой кислоты. Введя пропитанные ретиноевой кислотой гранулы (бусины) в передний край почки конечности куриного зародыша (рис. 17.21), они получили такую же зеркальную дубликацию пальцев, что и при подсадке ткани ЗПА. Оказалось, что пропитанные ретиноевой кис-

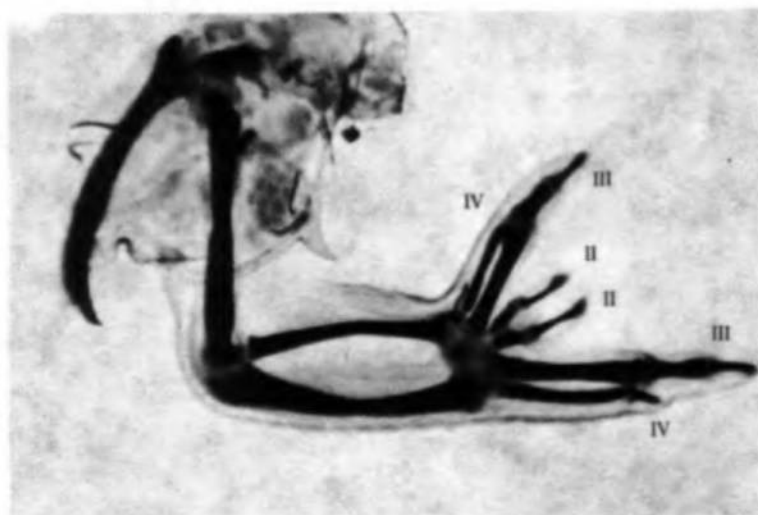
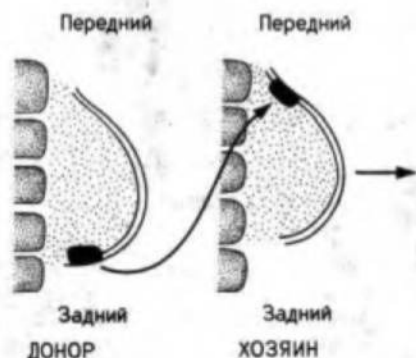


Рис. 17.18. Дубликация пальцев, возникших как зеркальное отражение нормальных пальцев, после пересадки зоны поляризующей активности (ЗПА) в область другой почки конечности. (Из Honig, Summerbell, 1985; фотография с любезного разрешения D. Summerbell.)

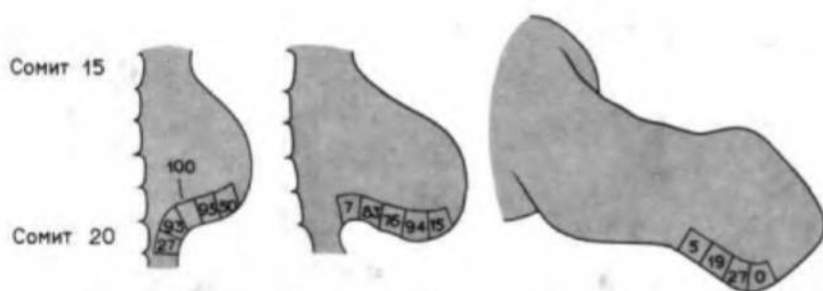


Рис. 17.19. Карта активности позиционного сигналинга (выраженная в процентах) в процессе развития конечности. Различные области из заднего края почки конечности вырезали и пересаживали в передний край. Сто процентов означает полную дубликацию в случае всех пересадок (как показано на рис. 17.18). (По Honig, Summerbell, 1985.)

лотой гранулы обладают такой же кинетикой действия, как и ткань ЗПА, образуя градиент через почку конечности.

Если ретиноевая кислота действительно служит естественным морфогеном, отвечающим за передне-заднюю полярность конечности куриного зародыша, то должны быть соблюдены четыре условия: 1) ретиноевая кислота должна присутствовать в ранней почке конечности куриного зародыша; 2) она должна образовывать градиент концентрации от заднего (ЗПА) к переднему краю; 3) клетки почки конечности должны экспрессировать белки, связывающие ретиноевую кислоту; 4) ретиноевая кислота должна присутствовать в концентрациях, способных вызывать дубликацию пальцев при экзогенном введении.

Все эти условия можно соблюсти. В 1987 г. Таллер и Эйхель (Thaller, Eichele, 1987) идентифицировали естественно присутствующий градиент ретиноевой кислоты в ранней почке конечности куриного зародыша; этот градиент имел пик в ЗПА. Поскольку биохимический анализ зародышей – зада-

ча чрезвычайно сложная (что объясняется их очень малыми размерами), для этой работы потребовались срезы 5536 почек конечностей, причем объем каждой почки составлял около 0,8 мкл. Было обнаружено, что целая почка конечности содержит ретиноевую кислоту в концентрации, равной примерно 25 нМ. При экзогенном введении на переднем крае почки конечности эта концентрация способна вызывать полную зеркальную дубликацию пальцев. В клетках почки конечности были также идентифицированы белки, связывающие ретиноевую кислоту. *Клеточный белок*, связывающий ретиноевую кислоту (связывающий ее в цитоплазме), сосредоточен в почке конечности и в клетках нервного гребня, которые чувствительны к ретиноевой кислоте (Maden et al., 1989). Выделен также специфический *ядерный рецептор ретиноевой кислоты* (белок, сходный со стероидсвязывающими факторами транскрипции). Ген этого белка клонирован, и с помощью радиоактивной кДНК гена удалось локализовать в почке конечности и краниальных производных нервного гребня мРНК ядерного рецептора ретино-

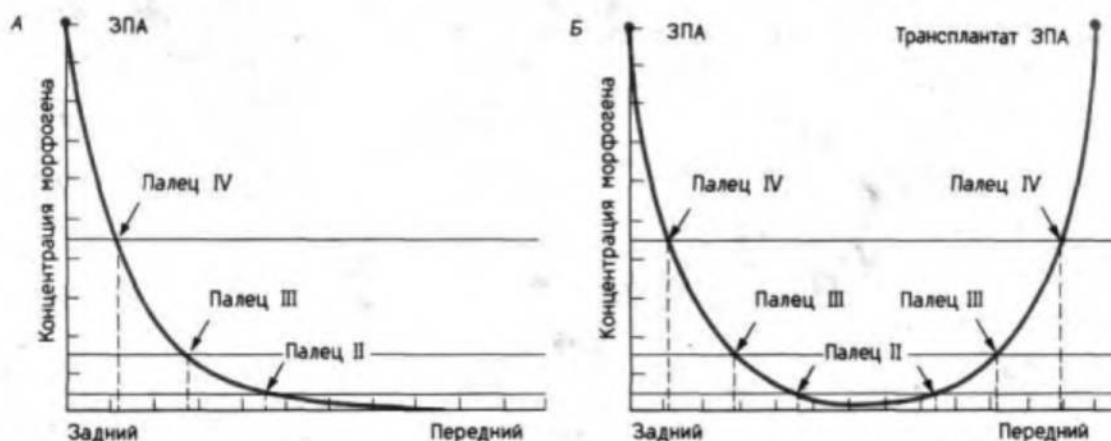


Рис. 17.20. Модель действия диффундирующего морфогена, секретируемого тканью ЗПА. А. Нормальная конечность. ЗПА которой синтезирует диффундирующее соединение; градиент концентрации этого соединения снижается по направлению к переднему концу. По мере того как снижение концентрации проходит определенные пороговые уровни, клетки получают инструкцию к формированию того или иного пальца. Задний палец обозначен числом IV, передний – II. Б. Пересадка дополнительной ЗПА в переднюю область почки конечности изменяет градиент концентрации этого морфогена, устанавливая симметричное его распределение. Поскольку пороговые условия сохраняют свое значение, развиваются симметричные дополнительные пальцы.



А



Б

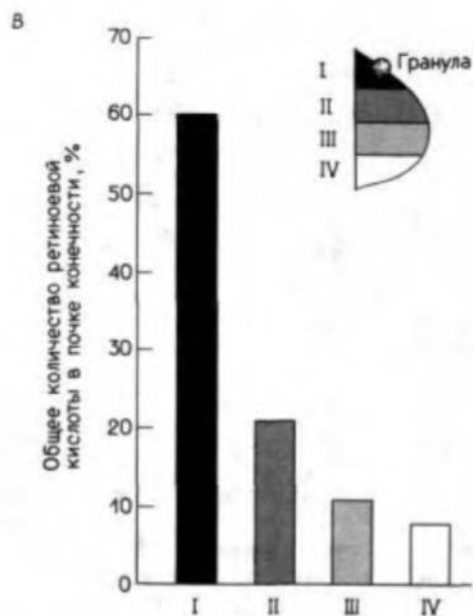


Рис. 17.21. Действие ретиноевой кислоты на развитие конечности у куриного зародыша. А. Микрофотография ранней почки конечности куриного зародыша, в которую помещена гранула, пропитанная ретиноевой кислотой. Микрофотография получена с помощью сканирующего электронного микроскопа. Б. Если в почку конечности помещена гранула, пропитанная ретиноевой кислотой в концентрации $10 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$, то образуется удвоенное крыло. В. Градиент концентрации ретиноевой кислоты в почке конечности через 6 ч после введения в почку конечности гранулы. (Из Tickle et al., 1985; фотография с любезного разрешения С. Tickle.)

ево́й кислоты. У 11-дневного зародыша мыши транскрипты рецептора ретиноевой кислоты сначала обнаруживаются по всей почке конечности, а затем локализуются в скоплениях будущих хрящевых клеток (Ruberte et al., 1990). В процессе регенерации конечностей тритона рецепторы ретиноевой кислоты выявляются в бластеме вскоре после ампутации. Наиболее высокий уровень их экспрессии

отмечен при дифференцировке хряща; по завершении регенерации этот уровень снижается (Giguère et al., 1989; Ragsdale et al., 1989). Таким образом, создается впечатление, что у позвоночных ЗПА секретирует ретиноевую кислоту, образующую градиент, который обуславливает пространственную организацию пальцев в почке конечности.

Возникает следующий вопрос: если ретиноевая

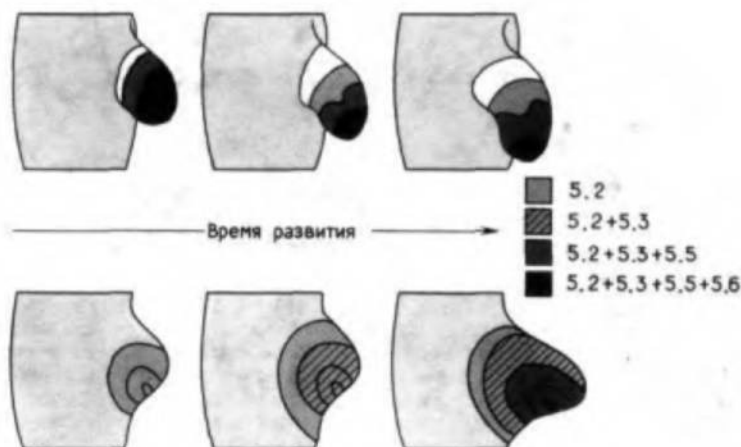


Рис. 17.22. Локализация продуктов гомеобоксодержащего гена *Hox 5* в развивающейся почке конечности куриного зародыша. Вверху. Увеличение последовательностей гена *Hox 5* по мере развития почки конечности. Внизу. Гипотетическая схема генерации таких картин зоной поляризующей активности. (По Dollé et al., 1989.)

кислота служит морфогеном у позвоночных, то каковы ее функции в клетке? Согласно одной из гипотез, различные концентрации ретиноевой кислоты активируют разные гомеобоксодержащие гены. Последние представляют собой факторы транскрипции и, как известно (гл. 12 и 18), активируют различные батареи генов вдоль переднезадней оси. Было обнаружено (Dollé et al., 1989), что вблизи ЗПА зародыша мыши активны гомеозисные гены *Hox 5.2*, *5.3*, *5.5* и *5.6*. Несколько выше ЗПА не обнаруживаются транскрипты *Hox 5.6*, а еще выше не наблю-

даются транскрипты *Hox 5.5*. По мере удаления от ЗПА транскрипционно активным остается лишь ген *Hox 5.2* (рис. 17.22). Возможно, гены, активируемые этими гомеобоксными факторами транскрипции, отвечают за различные свойства клеток этих областей почки конечности. К числу таких свойств можно отнести особенности клеточной поверхности. Соответствующие молекулы клеточной мембраны, связанные с активностью ретиноевой кислоты, пока не идентифицированы.

Дополнительные сведения и гипотезы

Ретиноевая кислота и формирование пространственной организации

Открытие морфогена у позвоночных явилось бы волнующей кульминацией продолжавшихся в течение десятилетий интенсивных исследований, а подтверждение предположений о том, что ретиноевая кислота служит естественным морфогеном при установлении полярности конечности, было бы особенно интересным, поскольку витамин А и его производные (**ретиноиды**) обладают широким спектром воздействий на развитие. Витамин А играет существенную роль в нормальном развитии костей и глаз млекопитающих. Если диета беременных и кормящих млекопитающих не содержит достаточного количества этого витамина, то у потомства происходит дегидратация и отслаивание роговицы, в сетчатке не накапливается зрительный пигмент, а кости не удлиняются в должной степени. Добавление ретиноидов в рацион таких животных (в остальном развивающихся нормально) оказывает значительное компенсирующее воздействие, которое зависит от дозы и от вида животного (Frolik, 1984). В некоторых работах было продемонстрировано, что ретиноиды необходимы для нормального развития эпителия (Wolbach, Howe, 1925), а применение производных витамина А трансформирует кератинизированный кожный эпителий куриного зародыша в ресничный эпителий, способный секретировать слизь (Fell, Mellanby, 1953). Ретиноевая кислота может вызывать терминальную дифференцировку некоторых злокачественных опухолей, клетки которых перестают делиться (Strickland, Mahadavi, 1978; Beitman et al., 1980).

Растущие конечности реагируют на ретиноиды по-разному в зависимости от 1) дозы ретиноида; 2) вида животного; 3) состояния конечности (т.е. развивается ли она у зародыша или регенерирует у взрослого животного). Как уже было сказано, воздействие ретиноевой кислотой на передний край

развивающейся почки конечности куриного зародыша вызывает развитие шестипалой, с зеркальным расположением пальцев конечности. Однако при высоких концентрациях развитие конечности вовсе прекращается и формируется культя. У других животных воздействие ретиноидов на почку конечности приводит к остановке роста кости (Scadding, Maden, 1986). Сходным образом, инъекция витамина А беременным мышам ведет к редукции конечности у плодов (Kochhar, 1977) и к другим аномалиям (см. гл. 5).

Однако в случае *регенерирующих* конечностей эффект оказывается иным. Погружение бластемы регенерирующей конечности саламандры в витамин А вызывает зависимость от дозы проксимодистальную дубликацию структур конечности; другими словами, полная конечность (начиная с наиболее проксимальной кости) отрастает от культи конечности независимо от исходного уровня ампутации (рис. 17.23) (Niazi, Saxena, 1978; Maden, 1982). Создается впечатление, что ретиноевая кислота проксимализует позиционное значение клеток бластемы, заставляя их «забыть» свое дистальное положение и регенерировать больше структур, чем они создали бы при нормальной регенерации. Чувствительность регенерирующих клеток к ретиноидам выше на стадии дедифференцировки и накопления клеток бластемы (Thomas, Stocum, 1984). В случае регенерирующих конечностей лягушки (*Rana*) и амбистомы (*Ambystoma*) воздействию подвергаются как проксимодистальная, так и переднезадняя оси, и в результате формируется зеркально дублированная полная конечность, начиная от места ампутации (рис. 17.24).

Способность витамина А и его производных изменять нормальное формообразование дает ключ к пониманию механизмов возникновения позицион-

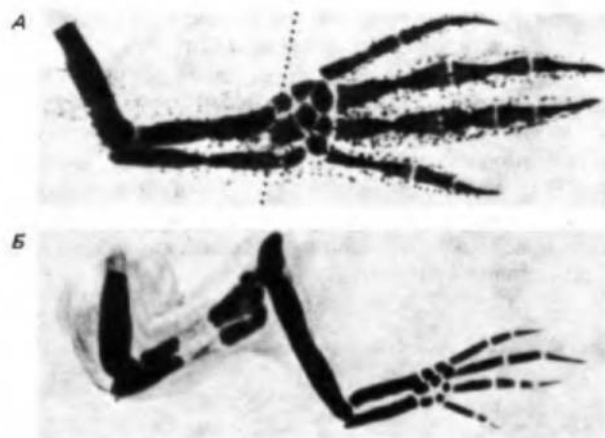


Рис. 17.23. Действие витамина А на регенерирующую конечность хвостатой амфибии. А. Нормально регенерирующая конечность аксолотля ($\times 9$) с плечевой, локтевой и лучевой костями, а также костями запястья и пальцев. Пунктирной линией обозначен уровень ампутации. Б. Регенерация после ампутации на уровне костей запястья в случае помещения бласты конечности в пальмитат ретинола на 15 сут. Сформировались новая плечевая, локтевая и лучевая кости, а также набор костей запястья и пальцев ($\times 5$). (Из Maden, 1982; фотография с любезного разрешения М. Maden.)



Рис. 17.24. Регенерация полной конечности и дополнительных структур в зеркальном отражении в результате инкубирования регенерирующей конечности лягушки в пальмитате ретинола в течение 6–9 сут. (Пунктиром обозначено место ампутации.) (Из Maden, 1984; фотография с любезного разрешения М. Maden.)

ной информации. Хотя эти механизмы все еще достаточно туманны, исследования, проводимые в лаборатории Дэвида Стокума (см. обзор Stocum, 1986)¹, свидетельствуют о том, что ретиноиды изменяют адгезивность поверхности клеток бласты. В экспериментах по рассортировке клеток как *in vitro*, так и *in vivo* было продемонстрировано (Nardi, Stocum, 1983; Crawford, Stocum, в печати) существование проксимодистального градиента клеток регенерационной бласты конечности у хвостатых амфибий. В случае нормально регенерирующих конечностей клетки бласты приобретают адгезивность

в зависимости от уровня, на котором произведена ампутация (гл. 15). Однако после воздействия ретиноидами все бласты ведут себя так, как если бы они были бластами плеча. Например, при пересадке бластем запястья, на которые воздействовали ретинолом, на бластему ампутированной задней конечности эти бласты запястья, как и бласты плеча, регенерируют всю переднюю конечность целиком. Эти данные свидетельствуют о том, что ретиноевая кислота, очевидно, модифицирует поверхность клеток бласты регенерирующей конечности.

Спецификация скелета конечности реакционно-диффузионными процессами

Как бы ни была удобна градиентная модель для объяснения формирования пространственной организации конечности позвоночных, она не охватывает всех сторон этого явления. Модель градиента морфогена не объясняет, каким образом одни клетки конечности становятся хрящевыми, а другие, расположенные на равном расстоянии от источника морфогена, дают начало фибробластам соединительной ткани. Другими словами, градиентная мо-

дель допускает, что еще до начала становления пространственной организации конечности имеет место некоторая детерминация клеток, дающих либо линию хондроцитов, либо линию фибробластов. Более того, при трансплантации дополнительной ЗПА на передний край почки конечности вторая плечевая кость не формируется, чего следовало бы ожидать в соответствии с градиентной моделью ЗПА (Wolpert, Hornbruch, 1987).

Стьюарт Ньюмен (Newman, 1988; Newman, Frisch, 1979) предложил модель, объясняющую, как в изначально однородной популяции мезенхимных клеток происходит прогрессивная детерминация линий хрящевых клеток и фибробластов. Согласно этой модели, более важное значение имеет не ЗПА, а зона

¹ См. также обзор более поздних данных: Д. Л. Стокум, В. И. Миташов. «Онтогенез», 21, № 1, 1990. — Прим. перев.

прогресса. Мезенхимные клетки почки конечности происходят из двух разных источников. С помощью химер перепел–курица (Christ et al., 1977; Chevallier et al., 1977) и специфических для той или иной линии моноклональных антител (George-Weinstein et al., 1988) было показано, что клетки-предшественники хряща и фибробластов возникают из соматоплевры, тогда как мышечные клетки-предшественники по своему происхождению связаны с сомитами. Таким образом, мышечные клетки детерминированы еще до развития конечности. Однако не известно, какие клетки станут хондроцитами, а какие – фибробластами. Формирование хряща начинается в проксимальной области и заканчивается в области пальцев (рис. 17.25). Ему предшествует конденсация клеток мезенхимы с образованием плотных скоплений. Конденсация, возможно, опосредована фибронектином, присутствие которого выявляется в местах,

совпадающих с конденсацией. Фибронектин способствует формированию клеточных скоплений, по-видимому, путем связывания протеогликанов на соседних клеточных поверхностях (Frenz et al., 1989). В мезенхимных клетках, образующих скопления, повышается уровень цАМФ, что сопровождается модификацией белков хроматина и транскрипцией новых хрящ-специфических мРНК. Вскоре после этого начинается и секреция специфических для хряща молекул внеклеточного матрикса (Solursh, 1984; Newman, 1988).

Но какие клетки должны формировать эти хрящевые скопления, а какие нет? Простая градиентная модель в данном случае не подходит. Почему, например, для плеча образуется одно скопление хрящевых клеток в наиболее проксимальной области, за ней следуют два скопления для лучевой и локтевой костей в средней части конечности и, наконец, для формирования пальцев – целый набор скоплений? Алан Тьюринг (Turing, 1952) – один из основателей компьютерной теории (математик, расшифровавший немецкий код “Enigma” во время второй мировой войны) предложил модель, объясняющую возникновение стабильного гетерогенного паттерна в растворе двух веществ, взаимодействие которых друг с другом формирует из хаоса упорядоченные структуры.

В **реакционно-диффузионной модели** Тьюринг описал поведение двух веществ, одно из которых, S, ингибирует продукцию другого – Р. Вещество Р способно к автокатализу и катализу вещества S. Если вещество S диффундирует быстрее Р, то в соответствии с уравнением Тьюринга концентрация вещества Р будет представлять собой волнообразную кривую с резкими пиками (рис. 17.26). Подобные волны можно наблюдать в некоторых химических реакциях (Prigogine, Nicolis, 1967; Winfree, 1974), причем они распространяются в трех измерениях (рис. 17.27; Welsh et al., 1983).

Реакционно-диффузионная модель предсказывает для некоторых веществ чередование областей высокой и низкой концентрации. Когда концентрация такого вещества превысит пороговый уровень, клетка (или группа клеток) получает инструкции к дифференцировке в определенном направлении. Важной особенностью модели Тьюринга является увеличение амплитуды волн одного химического вещества при подавлении волн другого. Увеличение локальной концентрации Р приводит к формированию в том же месте пика концентрации S, однако вследствие быстрой диффузии S он может быть описан более пологой кривой. Локальное увеличение S ингибирует формирование других пиков Р. Но какие из многочисленных пиков Р будут сохраняться? Это зависит от размеров и формы ткани, в которой распространяются волны. (Описанный

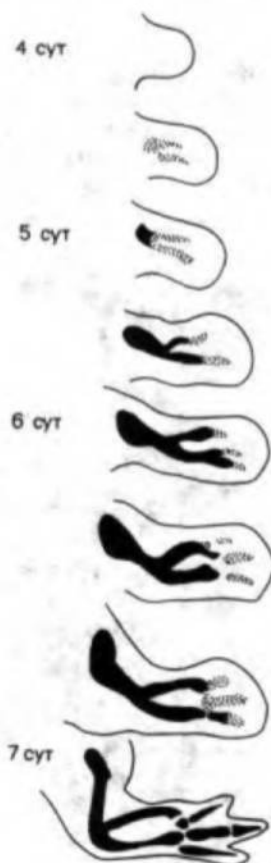


Рис. 17.25. Хрящевые конденсации в почке крыла куриного зародыша между 4 и 7 сутками развития. Точками обозначены новые области конденсации клеток мезенхимы; зачерненные области представляют дефинитивный хрящ. Видно, что формированию хряща предшествует скопление мезенхимных клеток, возникающее примерно за 12 ч до появления хряща. (Из Newman, 1988.)

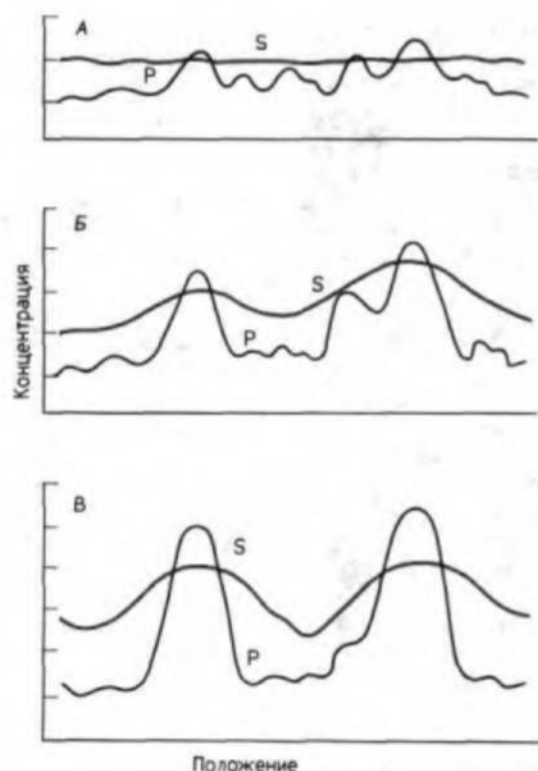


Рис. 17.26. Возникновение периодической пространственной гетерогенности в реакционной смеси веществ S и P при условии, что S ингибирует P, P катализирует образование как S, так и P, а S диффундирует быстрее P. А. Исходно неструктурированное распределение начинает быстро флуктуировать. Б, В. Локальное увеличение концентрации P вызывает усиленный синтез S, которое ингибирует появление других близлежащих пиков P. В результате возникает серия устойчивых пиков вещества P, расположенных через определенные интервалы (стоячая волна).

процесс аналогичен гармонике вибрирующих струн, как, например, у гитары, где разрешаются лишь определенные резонансные вибрации, определяемые длиной струны.)

Математическое описание того, какие волны отбираются при определенной длине, представлено сложными многочленами, называемыми **функциями Бесселя**. С помощью этих уравнений (Newman, Frisch, 1979; Oster et al., 1988) мы можем предсказать, что размер исходной почки конечности позволит образоваться только одному такому пику — и, следовательно, только одному хрящевому скоплению (рис. 17.28). Однако по мере роста почки конечности наступит момент, когда в размеры почки уместятся две волны. В результате из гомогенной мезенхимной ткани возникнут два хрящевых зачатка. Продолжение роста вдоль проксимодистальной оси и дальнейшее увеличение размеров приведет к тому, что в этой области смогут уложиться не-

сколько полных волн диффундирующих соединений и, таким образом, возникнут условия для закладки пальцев.

В соответствии с реакционно-диффузионной гипотезой хрящевые агрегаты активно включают все больше клеток из своего окружения и ингибируют латерально формирование других очагов конденсации. Число таких очагов, следовательно, определяется геометрией ткани и силой латерального ингибирования. Если интенсивность ингибирования остается на одном и том же уровне, то объем ткани должен возрастать, с тем чтобы там, где раньше допускался лишь один очаг, теперь могли сформироваться два. Реакционно-диффузионная модель позволяет предсказать, что небольшое изменение размеров дистальной почки конечности приведет к изменению числа пальцев. Такие факты и в самом деле наблюдались и, возможно, представляют собой наиболее простой путь приобретения или утраты пальцев в эволюции (см. гл. 23). Подобные стабильные волны создают **пространственную предорганизацию** (предпаттерн) конечности. Реакционно-диффузионный механизм не исключает наличие предлокализованных морфогенов или градиентов (чему есть надежные свидетельства), поскольку он может существовать в качестве самостоятельного



Рис. 17.27. Фотография пробирки диаметром 10 мм со стоячими волнами, возникающими в исходно гомогенной реакционной среде при окислении яблочной кислоты броматом в присутствии ионов церия. Волны выявлены с помощью красителя ферроина на уровне церий³⁺/церий⁴⁺. (Из Welsh et al., 1983.)

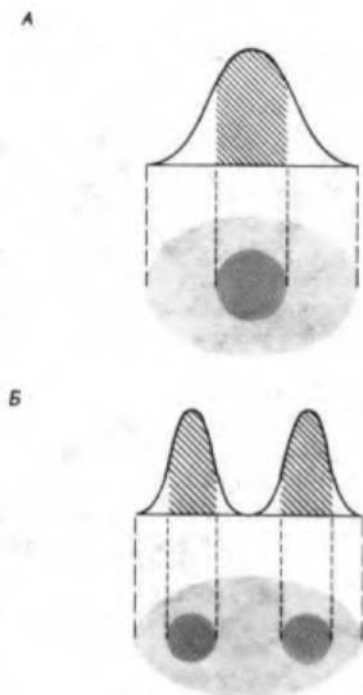


Рис. 17.28. Число стоячих волн, укладывающихся в данной области, зависит от размеров этой области. По мере ее роста создаются условия, позволяющие укладываться в ней возможно большему числу полных длин волн. А. Когда поперечный срез конечности вмещает единственную волну, возникает одна конденсация. Б. Если форма домена изменяется так, что в его поперечном сечении укладываются две полные длины волны, то возникают две конденсации. (По Oster et al., 1988.)

морфогенетического механизма, обуславливающего структуру зародыша.

Молекула, формирующая эти стоячие волны (и, следовательно, ответственная за организацию предхрящевых скоплений), пока не идентифицирована. Ньюмен и др. (Newman et al., 1988) полагают, что здесь может участвовать трансформирующий фактор роста β (ТФР- β). Известно, что этот белок стимулирует свой собственный синтез. Кроме того, имеются данные о том, что он стимулирует образование фибронектина, объединяющего клетки. Реакционно-диффузионная модель и модель ЗПА не исключают друг друга; возможно, функционирование обеих обеспечивает позиционную информацию, необходимую для создания такого сложного органа, как конечность. Создание или поддержание полярности конечности могут обеспечивать другие механизмы, ответственные за формирование пространственной организации (например, модель полярных координат).

Формирование пространственной организации в нервной системе

До сих пор мы обсуждали относительно простые проблемы, связанные с формированием пространственной организации, а именно регенерацию у гидр или развитие почки конечности у куриного зародыша. Эти проблемы, возможно, будут решены еще при нашей жизни. Теперь перейдем к рассмотрению данных проблем применительно к нервной системе. Из всех известных материальных структур наиболее упорядоченной является человеческий мозг. В большинстве тканей любая клетка может взаимодействовать определенным образом не более чем с дюжиной соседних клеток, что же касается нейрона, то он обладает способностью специфически взаимодействовать с тысячами подобных клеток. В мозге человека насчитывается более 10^{12} нейронов, и любой крупный нейрон (такой, как клетка Пуркинье или мотонейрон) может получать импульсы от более чем 10^5 других клеток, образуя в то же время связи с приблизительно тысячей клеток (Gershon et al., 1985). Эта сложность — одна из причин того, что человеческий мозг, как и мозг других позвоночных, до сих пор изучен довольно плохо. Большая часть наших знаний о нервной системе основана на исследованиях нервной системы беспозвоночных, у которых она состоит из небольшого числа крупных, легко идентифицируемых нейронов.

Функционирование мозга позвоночных зависит не только от дифференцировки и положения нервных клеток, но и от специфических связей, устанавливаемых этими клетками между собой. Иными словами, нервы, отходящие от любого сенсорного органа, например глаза, должны устанавливать связи с особыми нейронами мозга, способными интерпретировать зрительные стимулы, и аксоны нервной системы должны пересекать большие пространства, занятые другими тканями, прежде чем иннервировать соответствующую ткань-мишень. Каким образом аксон нейрона «знает», что ему следует миновать многочисленные потенциальные клетки-мишени, чтобы установить свою специфическую связь? Харрисон (Harrison, 1910) продемонстрировал, что специфичность роста аксонов является следствием наличия **пионерских нервных волокон**, которые идут впереди других аксонов и выполняют роль гидов. Это наблюдение упрощает, но не решает проблему формирования нейронами определенной картины взаимных связей. Харрисон заметил, однако, что нейроны должны расти по плотному субстрату, и предположил, что различия между эмбриональными поверхностями должны обуславливать миграцию нейронов в нужных направлениях. Окончательные связи устанавливались бы в результате

комплементарных взаимодействий клеточных поверхностей.

«О необходимости некоего взаимодействия поверхности каждой разновидности нервного волокна и иннервируемой им периферической структуры свидетельствует тот факт, что чувствительные и двигательные нейроны, идущие рядом в одном и том же пучке, тем не менее формируют соответствующие периферические связи: один — с эпидермисом, другой — с мышцей... Приведенные выше факты позволяют предположить, что здесь должна быть определенная аналогия с объединением яйца и спермий».

Блестящие экспериментальные работы и гипотезы Харрисона заложили основу для изучения пространственной организации нейронов, так же, как другие его исследования послужили отправным пунктом наших знаний о формировании пространственной организации конечности.

Механизм направленного роста аксонов

ГИПОТЕЗА КОНТАКТНОГО ОРИЕНТИРОВАНИЯ. Одна из первых гипотез, предложенная для объяснения специфичности роста аксонов, включала представления о **контактном ориентировании (стереотропизме)**. Согласно этой гипотезе, рост аксона направляют физические свойства субстрата. Используя предложенную Харрисоном методику роста аксонов на кровяном сгустке, Вейс (Weiss, 1955) отметил, что растущие аксоны не только нуждаются в твердом субстрате, по которому мигрируют, но что миграция зависит и от топографии субстрата. Если волокна кровяного сгустка ориентированы беспорядочно, то и аксоны растут неупорядоченно. Но если волокна кровяного сгустка идут параллельно в результате натяжения поверхности сгустка, то аксоны нейронов мигрируют вдоль этих волокон, не отклоняясь от их направления (см. рис. 15.14). Это свидетельствует о том, что в контактном ориентировании участвуют физические факторы. Сингер и др. (Singer et al., 1979) получили данные, согласно которым подобные физические факторы действуют и *in vivo*. Эти авторы обнаружили между эпендимными клетками развивающегося спинного мозга тритона обширные каналы, по которым мигрируют растущие аксоны. Было высказано предположение, что эти каналы обуславливают ориентированный рост аксонов к соответствующим областям мозга. Клеточные каналы описаны и в сетчатке мышцы (Silver, Sidman, 1980); очевидно, они направляют аксоны ганглиозных клеток сетчатки в глазной стебелек во время своего развития.

ГИПОТЕЗА МЕЧЕНЫХ ПУТЕЙ. У *Drosophila*, кузнечиков и *Caenorhabditis* (и, по-видимому, у большинства беспозвоночных) движение аксонов являет-

ся удивительно точным процессом. В эмбриональной эктодерме насекомых содержатся кластеры клеток, которые становятся либо эпидермальными, либо нервными тканями. Эксперименты с использованием лазерного излучения для избирательного удаления клеток (Taghert et al., 1984) продемонстрировали, что выбор направления дифференцировки (т. е. станут ли клетки нервными или эпидермальными) зависит от взаимодействий клетка-клетка в пределах этих кластеров, и после того как выбор сделан, предшественники нервных клеток претерпевают серию делений, дающих в результате семейство нейронов.

Например, в каждом сегменте кузнечика возникает 61 нейробласт (30 с каждой стороны и 1 в центре). Остальная эктодерма формирует эпидермис. Один кластер эктодермальных клеток отвечает за образование нейробласта 7-4 (рис. 17.29). Если лазерным лучом разрушить весь кластер, то нейробласт 7-4 не сформируется. Если же, однако, избирательно уничтожить клетку увеличенных размеров, готовящуюся к формированию этого нейробласта, то ее место будет занято соседней клеткой, которая и даст нейробласт 7-4.

Нейробласт 7-4 — стволовая клетка; она дает начало семейству из шести нейронов, обозначаемых как C, G, Q1, Q2, Q5 и Q6. Это семейство нейронов представлено на рис. 17.29 (на одной из сторон обложки они обозначены желтым цветом). Конусы роста этих нейронов достигают своих мишеней, следуя по специфическим путям, проложенным другими, предшествующими нейронами. Q1 и Q2 сначала идут вместе прямым путем, минуя многочисленные клетки, пока не встретят аксон нейрона-предшественника из дорсальной средней линии (dMP2), который они будут сопровождать назад. Другие четыре нейрона из семейства 7-4 мигрируют через аксон dMP так, будто его не существует. Аксоны нейронов C и G долго идут вместе; в конце концов C присоединяется к нервам X1 и X2 и сопровождает их к задней части сегмента; тогда как G прилипает к аксонам P1 и P2 (идущим назад) и движется вперед по их поверхностям (Goodman et al., 1984).

Конус роста G по мере своего продвижения встретится более чем с сотней различных поверхностей, к которым он мог бы прилипнуть, но его адгезионная способность специфична лишь в отношении нейронов P. Если нейроны P убить лазером, то в поведении конуса роста G появятся аномалии: его филоподии будут совершать беспорядочные поисковые движения, пытаясь найти подходящую поверхность для миграции. Если же разрушить любой другой из 100 или более аксонов, то на поведении конуса роста G это не скажется.

Теоретическое объяснение механизма, с по-

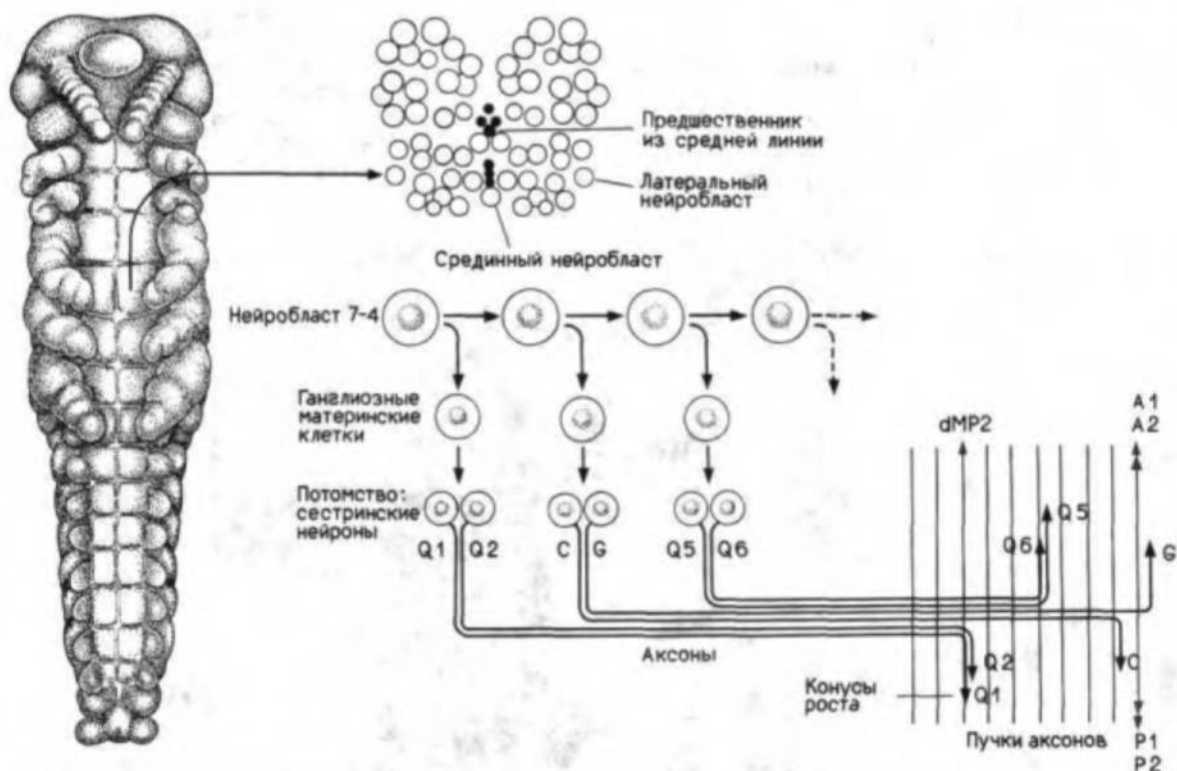


Рис. 17.29. Каждый из 17 сегментов раннего зародыша кузнечика характеризуется одинаковым набором и расположением нейробластов. С каждой стороны располагается по 30 латеральных нейробластов, 1 срединный нейробласт и 7 предшественников нейронов средней линии. Эти последние делятся один раз, тогда как латеральные нейробласты, служащие стволовыми клетками, осуществляют ряд повторных делений, формируя «материнские ганглиозные клетки». Каждая материнская ганглиозная клетка делится один раз, давая начало двум сестринским нейронам. Представленный здесь нейробласт 7-4 образует потомство примерно из 100 нервных клеток, первые шесть поколений которых приведены на схеме. (По Goodman, Bastiani, 1984.)

мощью которого аксоны насекомых ищут пути для своего роста, получило название **гипотезы меченых путей**, так как в ее основе лежит представление о том, что любой данный нейрон способен специфически узнавать поверхность другого нейрона, уже проложившего свой путь впереди него. Подтверждение этой специфичности было получено с помощью моноклональных антител (Bastiani et al., 1987). Нейроны аСС и рСС представляют собой сестринские нейроны (оба происходят от нейробласта 1-1), имеющие совершенно различную судьбу. Кроме того, к каждому из них прилипают разные наборы аксонов, формирующие независимые пучки. При обработке нейронов 10-дневных зародышей моноклональными антителами было обнаружено, что они специфически связываются с веществом, присутствующим на двух нейронах аСС каждого сегмента, но не связываются с нейронами рСС. К 11-му часу, однако, эту поверхностную молекулу начинают экспрессировать другие нейроны (но не рСС). Это именно те нейроны (RP1, RP2, U1, U2), которые образуют пучки с аСС.

Исследования на позвоночных намного отстают от исследований, выполненных на насекомых, но последние данные, полученные для двигательных нейронов рыбы данио, свидетельствуют о том, что и здесь могут функционировать меченые пути. Эйзен и др. (Eisen et al., 1986) наблюдали удлинение аксонов трех эмбриональных нейронов. Покинув спинной мозг, они следуют по одному и тому же пути вдоль мышцы, пока не достигнут нужного места в зародыше. От этой точки их пути расходятся по трем направлениям.

ГИПОТЕЗА ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ. Модели меченых путей при всей их важности не могут объяснить проблемы в целом. Что, например, заставляет нейрон G мигрировать вперед по поверхности аксонов P1 и P2, которые сами мигрируют к задней части сегмента? Каким образом аксон узнает о необходимости сделать поворот и откуда первые аксоны получают инструкции о том, что они должны стать опорой для следующих за ними? Одна из гипотез, с помощью которой пытаются найти ответ на эти вопросы, — **гипотеза дифференциальной**

адгезивной специфичности (ганготаксиса). Согласно этой модели, вдоль пути аксона существуют градиенты адгезивности, о которых уже шла речь (гл. 15) в связи с объяснением миграции ткани протока пронефроса.

Конусам роста часто приходится мигрировать

по внеклеточному матриксу, и молекулы внеклеточного матрикса весьма существенно влияют на рост аксона. Так, например, ткань нейральной сетчатки не будет посылать аксоны по поверхности пластмассовой культуральной чашки. Если же поверхность такой чашки покрыть фибронектином или

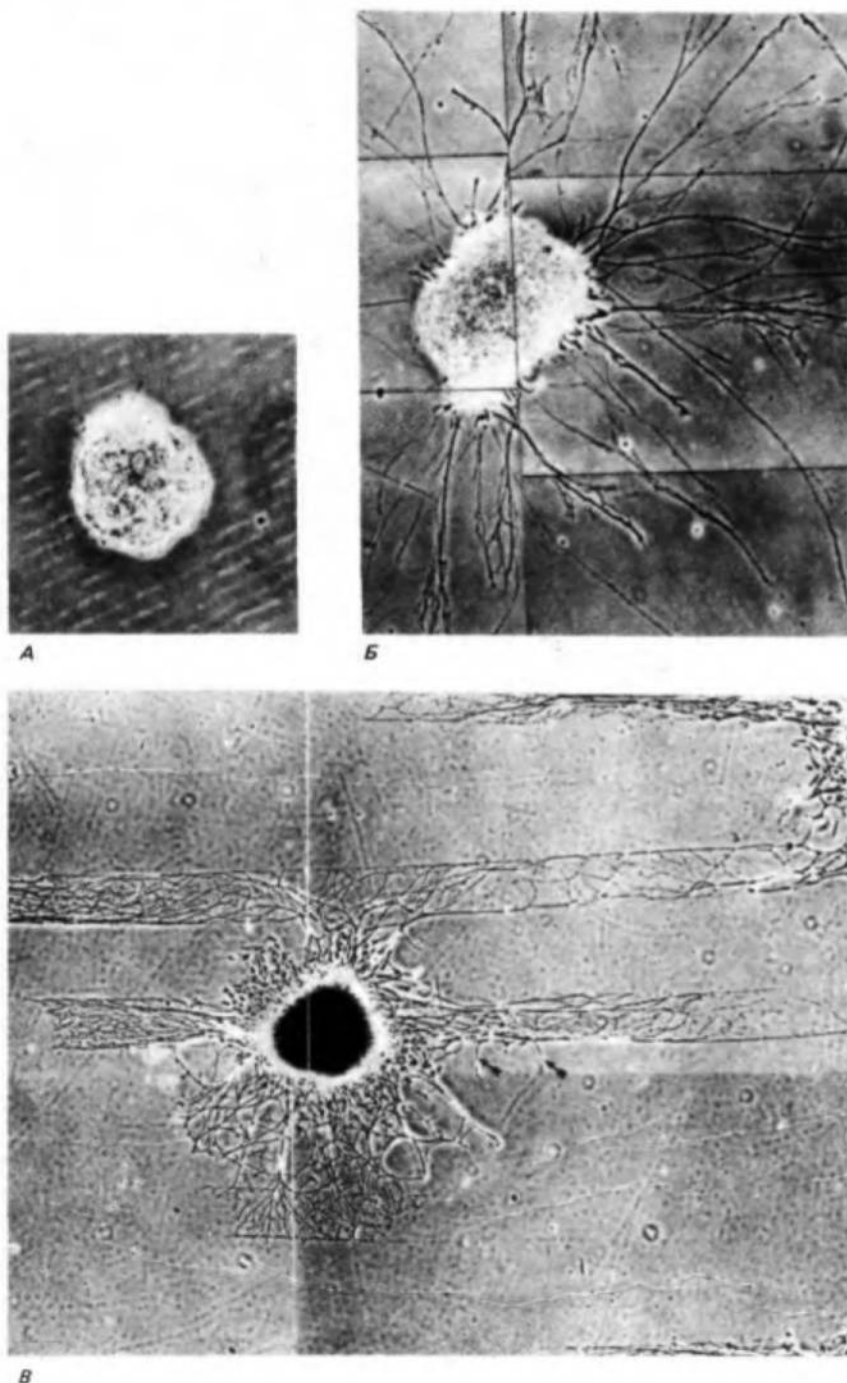
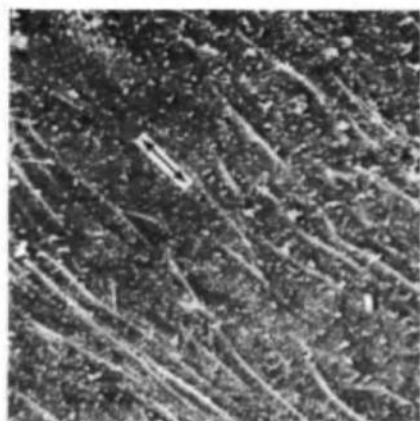
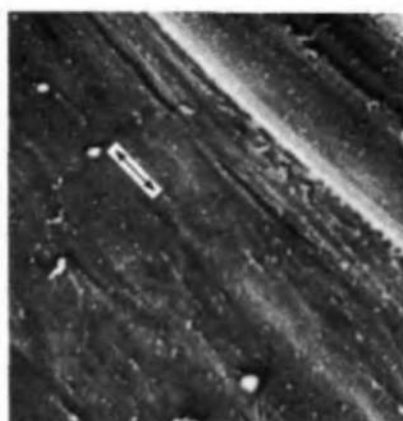


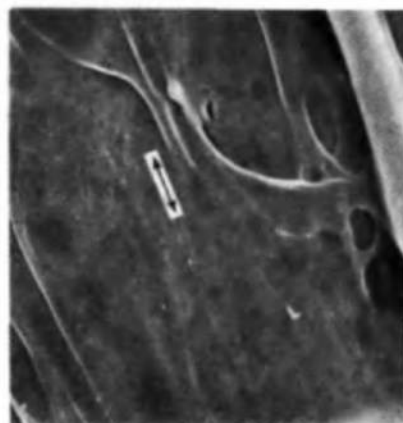
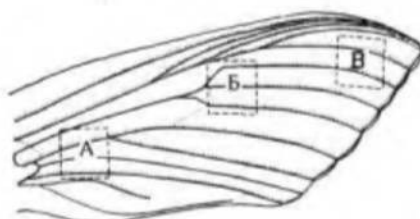
Рис. 17.30. Действие субстратов и растворимых факторов на формирование нервных отростков. А, Б. Действие фибронектина на образование аксонных отростков у агрегатов нейральной сетчатки. Агрегат, представленный на А, в течение 36 ч культивировали на необработанной поверхности пластика. Агрегат, представленный на Б, культивировали на пластике, обработанном раствором фибронектина в концентрации $50 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$. В. Рост чувствительных аксонов на структурированном субстрате, состоящем из параллельных полос ламинина, нанесенного на слой коллагена типа IV. (А, Б—из Akers et al., 1981; В—из Gundersen, 1987. Фотографии с любезного разрешения J. Lilien, R. W. Gundersen.)



А



Б



В

Рис. 17.31. Градиент фибрилл внеклеточного матрикса в развивающемся крыле бабочки *Manduca sexta*. Обоюдоострые стрелки обозначают проксимодистальную ось. Микрофотографии трех участков крыла, полученные с помощью сканирующего электронного микроскопа заимствованы из работы Nardi, 1983 (с любезного разрешения этого автора.)

ламинином, то клетки начинают посылать длинные аксонные выросты. Присутствие таких молекул может обозначить пути миграции по зародышу (рис. 17.30) (Akers et al., 1981; Gundersen, 1987). И напротив, гликозаминогликаны — другой набор молекул, связанных с внеклеточным матриксом, — может препятствовать образованию нервных отростков (Tosney, Landmesser, 1985). Таким образом, аксон, оказавшись перед выбором двух альтернативных поверхностей, должен отдать предпочтение одной из них.

Вывод о наличии адгезионного градиента этого типа был сделан на основе изучения некоторых миграций аксонов у насекомых. Нарди (Nardi, 1983) наблюдал, что отростки чувствительных нейронов, расположенных в области верхушки крыла куколки бабочки, растут к центральной нервной системе в тесной связи с внеклеточным матриксом лежащего выше эпителиального слоя. Поместив трансплантаты вдоль пути развития аксона, Нарди обнаружил, что нейроны более плотно присоединяются к проксимальной ткани (ткани, расположенной ближе к центральной нервной системе), чем к дистальной.

На микрофотографиях внеклеточного матрикса, полученных с помощью сканирующего электронного микроскопа, видно, что матрикс вдоль этого пути изменяется. По мере приближения к центральной нервной системе он становится все более «шишковатым» и фибриллярным (рис. 17.31). Другими авторами (Berlot, Goodman, 1984) также были получены данные о том, что чувствительные нейроны кузнечика, появляющиеся в антенне, растут по направлению к центральной нервной системе, очевидно следуя градиенту адгезивности.

ГИПОТЕЗА ХЕМОТАКСИСА. Рост аксонов от ганглия к ткани-мишени может направляться растворимыми молекулами, источником которых служит сама мишень. Предполагается, что конус роста аксона мигрирует по градиенту концентрации этих молекул (хемотаксис). В пользу этой точки зрения свидетельствуют результаты опытов по подсадке ганглиев вблизи различных потенциальных тканей-мишеней, но так, чтобы они не касались этих тканей. Лумсден и Дэвис (Lumsden, Davies, 1983, 1986) вырезали у мышиных зародышей тройничные ганглии чувствительных нейронов до того, как установ-

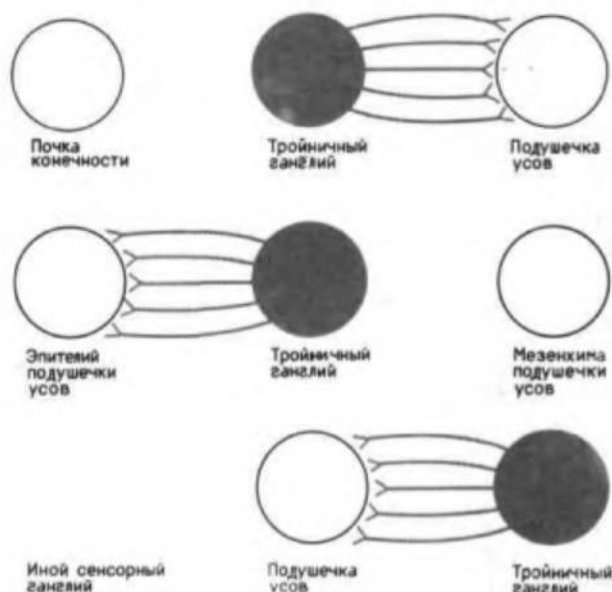


Рис. 17.32. Суммарная схема экспериментов Лумедена и Дэвиса, продемонстрировавших хемотаксис между нервной тканью (тройничный ганглий) и ее мишенью (область иннервации вибрисс, или «усов»). Хемотаксис специфичен в отношении мишени (*вверху*) и эпителиальных клеток мишени (*в середине*). Кроме того, хемотаксическое привлечение областью вибрисс является специфичным для нейронов ганглия тройничного нерва (*внизу*).

ливался контакт нейронов с их нормальными мишенями — подушечками вибрисс (усов). Будучи помещены вблизи различных потенциальных мишеней в условиях культуры, тройничные нейроны мигрируют только к ткани подушечек усов. А если их культивировать между эпителиальной и мезенхимной тканью подушечек усов, то тройничные нервы будут расти только к эпителиальной ткани этой структуры (рис. 17.32). Наилучшим образом эти данные можно было бы объяснить, постулируя секрецию эпителием подушечек усов некоего хемотаксического вещества. Хемотаксический рост тройничного нерва к подушечкам усов не только специфичен в отношении мишени, но и в отношении нейронов. Ткань подушечек усов не привлекает аксоны, идущие от других чувствительных ганглиев.

Хемотаксис характеризуется временными параметрами. Было обнаружено (Pollack, Muhlach, 1981), что миграция аксонов из спинного мозга в мезодерму незрелой конечности головастика может быть имитирована в культуре. Ранние (стадия 5) эксплантаты спинного мозга могут посылать аксоны в раннюю (стадия 5) почку конечности, но ранние эксплантаты спинного мозга не способны посылать аксоны в более поздние (стадия 15) почки конечностей (рис. 17.33). Следовательно, эксплантаты конечности, выделяя какие-то диффундирующие мо-

лекулы, привлекают растущие аксоны лишь на определенных стадиях развития.

Наиболее полно охарактеризованной молекулой нейрального хемотаксиса является **фактор роста нервов** (ФРН), представляющий собой гликопротеин, состоящий из двух идентичных субъединиц с молекулярной массой 13 000 дальтон. ФРН поддерживает жизнеспособность симпатических и чувствительных нейронов в процессе развития, а экзогенно введенный ФРН влияет на направление роста нервов (Angeletti, Vigneti, 1971; Levi-Montalcini, 1976; Ebendal et al., 1982). В 1989 г. Эдвардс и др. (Edwards et al., 1989) представили убедительные данные, свидетельствующие о том, что синтез клетками ФРН приводит к иннервации этих клеток. Они сконструировали плазмиду, содержащую мышинный ген ФРН, присоединенный к регуляторным элементам гена инсулина II крысы. Иначе говоря, они поместили ген ФРН под контроль факторов, ответственных за транскрипцию инсулина в β -клетках поджелудочной железы. Затем этот ген был инъецирован зародышам мыши. Наблюдения над секрецией ФРН в трансгенных мышках показали, что β -клетки их поджелудочной железы не только продуцировали большие количества ФРН, но и индуцировали отчетливо выраженную собственную иннервацию симпатическими нейронами. Действие ФРН оказалось локальным. Новые нейроны не образовывались, а иннервация происходила за счет исключительно интенсивного ветвления и направленного роста нейронов, находившихся вблизи этой области. При нормальном развитии ФРН синтезируется многочисленными тканями-мишенями, в том числе железами, подушечками на лапах и другими нейронами.

По-видимому, ФРН является как нейротропическим фактором (т.е. непосредственно влияющим на направленный рост нейронов), так и нейротрофическим фактором. Нейротрофические факторы — это соединения, необходимые для обеспечения жизнеспособности нейронов. В ходе нормального развития центральной и периферической нервной системы наблюдается массивная гибель нейронов (см. разд. «Дополнительные сведения и гипотезы» на стр. 124). Удаление ткани-мишени часто вызывает гибель нейронов из-за недостатка нейротрофических факторов, при этом, очевидно, происходит конкуренция между нейронами за небольшое количество факторов, секретируемых тканью-мишенью. В результате из многочисленных нейронов, приступивших к иннервации ткани-мишени, спустя несколько дней обычно остается лишь один. ФРН необходим для выживания симпатических и чувствительных нейронов. Воздействие на зародышей мыши антителами к ФРН снижает число тройничных нейронов и нейронов ганглиев спинных корешков до 20% от контрольного числа (Levi-Montalcini, Booker, 1960;

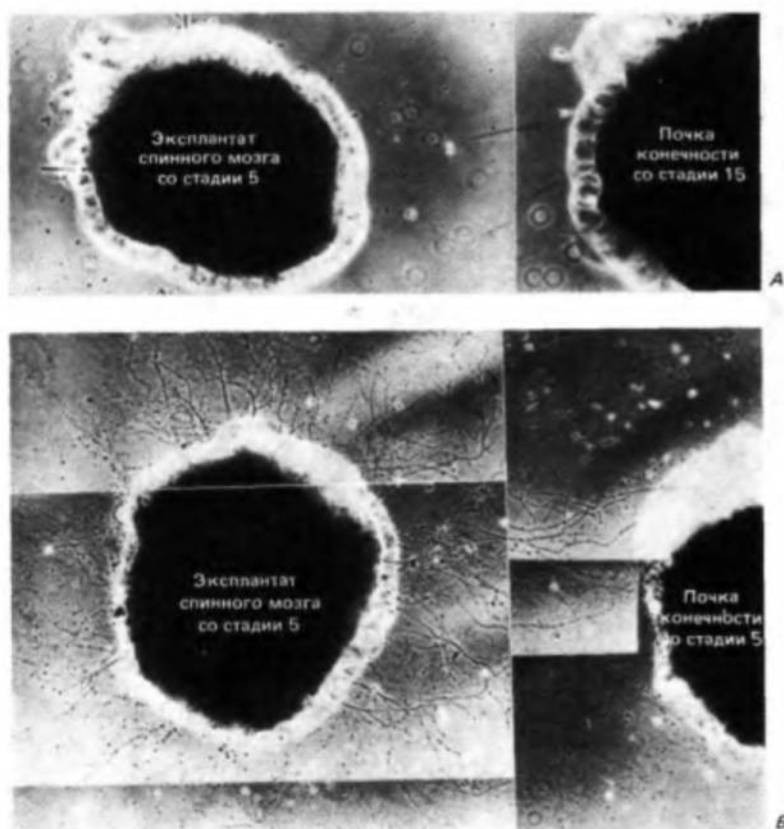


Рис. 17.33. Рост аксонов у культивируемых эксплантатов спинного мозга головастика лягушки в зависимости от стадии развития. А. Ранний (стадия 5) эксплантат спинного мозга при совместном культивировании с поздней (стадия 15) почкой конечности не посылает отростков. Б. Рост аксонов у эксплантатов спинного мозга, взятых на стадии 5, резко усиливается при совместном культивировании с почками конечности, также находящимися на стадии 5. (Из Pollack, Muhlach, 1981; с любезного разрешения авторов.)

Pearson et al., 1983). Обнаружено, что ткани-мишени симпатических нейронов секретируют ФРН, и удаление этих тканей вызывает гибель нейронов, которые могли бы их иннервировать. Кроме того, существует хорошая корреляция между количеством секретируемого ФРН и выживаемостью нейронов, иннервирующих эти ткани (Korsching, Thoenen, 1983; Harper, Davies, 1990).

Охарактеризованы по меньшей мере два других нейротрофических белка. Эти белки — нейротрофический фактор мозга (НТФМ) и нейротрофин-3 (НТ-3) — имеют в основном ту же структуру, что и ФРН. Они, однако, способствуют выживанию нейронов, относящихся к несколько различающимся группам. Если одни нейроны могут реагировать на все три фактора, то другие отвечают либо на два, либо на один из них. Печень и скелетные мышцы синтезируют НТ-3, способный поддерживать выживание висцеральных нейронов, которые не чувствительны к ФРН. Вместе с тем ФРН может поддерживать жизнеспособность нейронов симпатических ганглиев, которые не реагируют на НТ-3 (Hohn et al., 1990; Maisonnier et al., 1990).

Одно из интересных наблюдений касается нейромедиаторов: выделяемые одним из конусов роста нерва, они могут ингибировать или ускорять удли-

нение других конусов роста. Нейромедиаторы влияют на картину межнейронных связей у моллюска *Helisoma*. Секретируя серотонин, нейрон 5 не дает нейрону 19 образовывать синаптические контакты (рис. 17.34). Влияние серотонина на скорость роста аксонов этих двух нейронов показано на рис. 17.35. Не действуя на нейрон 5, серотонин способен полностью ингибировать рост аксонов нейрона 19, вызывая сокращение филоподий его конуса роста (Haydon et al., 1985; Kater, 1985).

Кроме того, нервы могут влиять на конусы роста других нейронов посредством электрической активности. Коль скоро установятся электрические потенциалы (как в нервно-мышечных соединениях), потенциал действия может приостанавливать образование аксонального отростка для других нейронов (Cohan, Kater, 1986).

МНОЖЕСТВЕННОСТЬ ПУТЕВОДНЫХ ВЕХ. Одно из наиболее загадочных явлений нейробиологии развития позвоночных касается иннервации мышц конечности. Аксональные выросты двигательных нейронов появляются в развитии очень редко, до того как тела этих нейронов мигрируют к своим дефинитивным ганглиям, а мезенхима конденсируется в мышцы. Эта стадия иллюстрирована на рис. 16.29, Б. Таким образом, во время иннервации конечности

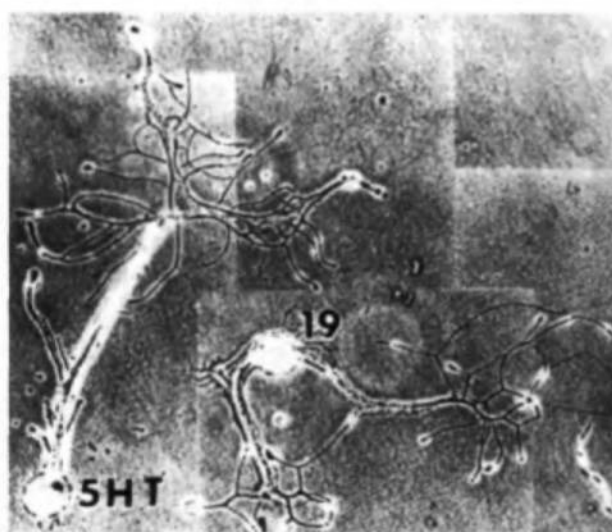


Рис. 17.34. Особенности роста нервных отростков. Конусы роста нейрона 19 отклоняются от выделяющего серотонин нейрона 5 (5HT) при совместном культивировании этих двух нейронов *Heliosoma*. При совместном культивировании двух других нейронов (например, двух нейронов 19) наблюдается их сближение в результате взаимного притяжения (не показано). (Из Kater, 1985; фотография с любезного разрешения S. B. Kater.)

аксонами ни нейроны, ни их мишени, ни пути миграции не представляются достаточно определенными (Hollyday, 1980; Landmesser, 1978). И тем не менее они очень хорошо определены в другом отношении. Если направить в конечность нейроны из другого источника (другого ганглия), то характер ветвления этих нейронов будет нормальным. Иными словами, конечность способна диктовать характер иннервации набору аксонов, в норме конечность не иннервирующих (Hamburger, 1939; Hollyday, et al., 1977). Более того, если перевернуть сегменты спинного мозга цыпленка так, что двигательные нейроны

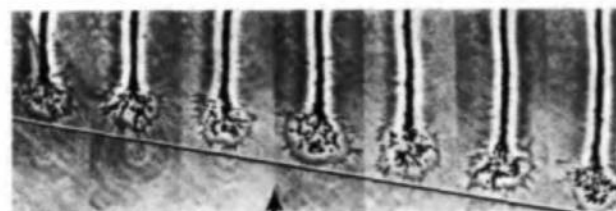


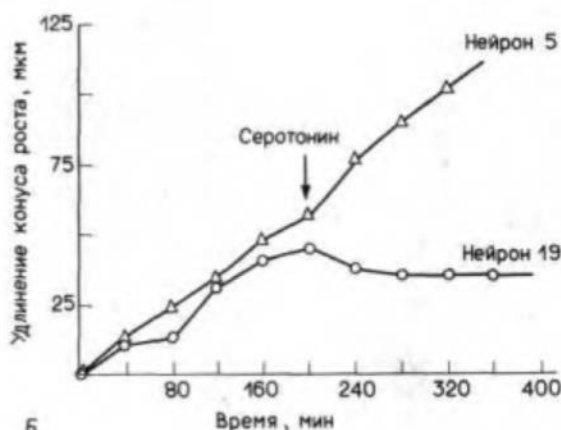
Рис. 17.35. Удлинение конуса роста нейрона 19 и нейрона 5 *Heliosoma* при культивировании их в присутствии 10^{-7} M серотонина. Стрелкой отмечено время внесения серотонина в культуру. Конус роста нейрона 5 (представлен на А) в среде с серотином продолжает расти, тогда как филоподии аксонов нейрона 19 под действием серотонина элиминируются, а рост прекращается. (По Kater, 1985; фотография с любезного разрешения S. B. Kater.)

займут новые положения, то их аксоны все равно найдут нужные мишени (рис. 17.36) (Lance-Jones, Landmesser, 1980). В то же время, если сконструировать конечности таким образом, что они будут иметь дублированные области (например, два бедра), то нейронами, иннервирующими второе бедро, будут не специфические «нейроны бедра», а нейроны, которые обычно иннервируют мышцы голени (Whitelaw, Hollyday, 1983). Результаты этих экспериментов представляют собой парадокс, не разрешенный до сих пор (Purves, Lichtman, 1985): «Нейроны обязаны расти к своим специфическим мишеням, однако аксоны из различных источников двигательных нейронов могут заменять друг друга при установлении нормальной картины иннервации». Наиболее приемлемым объяснением служит допущение одновременного действия множественных механизмов, которые обеспечивают рост аксонов к соответствующим местам.

Идея множественности путеводных вех привлекается и для объяснения того, каким образом индивидуальные нейроны сетчатки зародышей *Xenopus laevis* могут посылать аксоны в нужную область мозга, будучи трансплантированы на расстоянии от зрительного нерва (Harris, 1986). Это свойство заставляет полагать, что путеводные вехи распределены не только вдоль нормальных путей, но существуют по всему мозгу зародыша. Ориентировка роста аксона у зародыша от тела нервной клетки к месту назначения представляет собой сложный процесс, и Шпеман (Spemann, 1938), очевидно, прав, предположив одновременное использование нескольких различных типов вех, обеспечивающих установление правильных связей.

Механизмы синаптической специфичности

КАЧЕСТВЕННЫЕ РАЗЛИЧИЯ: ГРАДИЕНТЫ. Достижение аксоном органа-мишени еще не решает всей



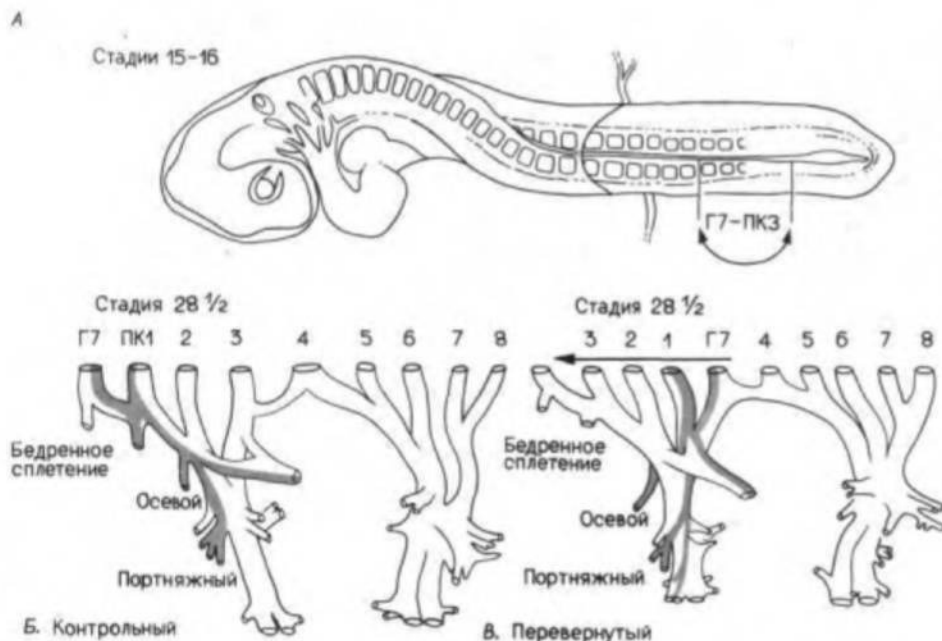


Рис. 17.36. Компенсация небольших изменений в положениях мест инициации аксонов у куриного зародыша. А. Участок спинного мозга, включающий сегменты Г7-ПКЗ (с седьмого грудного по третий пояснично-крестцовый сегменты), перевернут у 2,5-суточного куриного зародыша. Б. Нормальное направление роста аксона в различных мышцах на 6 сутки. В. Направление роста аксонов в перевернутом сегменте. Нейроны, оказавшиеся в эктопическом положении, в конце концов находят правильные пути и иннервируют соответствующие им мышцы. (Из Lance-Jones, Landmesser, 1980.)

задачи. Смысл функционирования нервной системы заключается в ее способности формировать специфические связи между аксоном одного нейрона и другой клеткой или группой клеток. Образование таких связей называется **синаптической специфичностью** и может быть превосходно иллюстрировано примером установления связей аксонами, идущими от ганглиозных клеток сетчатки. Ганглиозные клетки сетчатки посылают аксоны, формирующие зрительный нерв. У позвоночных, за исключением млекопитающих, эти аксоны проходят обширные области мозга, не образуя ни единого соединения, и заканчиваются формированием синапсов с клетками **зрительного тектума**¹. Каждый аксон сетчатки посылает импульсы к одному специфическому участку (клетке или небольшой группе клеток) в пределах тектума (Sperry, 1951). Как показано на рис. 17.37, в мозге имеются два зрительных тектума. Аксоны из левого глаза входят в правый зрительный тектум, а аксоны правого глаза формируют синапсы с клетками левого зрительного тектума.

Подробная карта связей сетчатки со зрительным тектумом (**ретино-текстальная проекция**) была составлена Маркусом Джекобсоном (Jacobson, 1967). Джекобсон создал эту карту, освещая узким пучком света небольшие ограниченные области сетчатки и регистрируя с помощью электрода, вживленного в тектум, возбужденные текстальные клетки. Ретино-текстальная проекция *Xenopus laevis* представлена на



Рис. 17.37. Карта нормальной ретино-текстальной проекции у взрослых *Xenopus*. Правый глаз иннервируется от левого тектума; левый глаз иннервируется от правого тектума. Цифры на зрительных полях (сетчатке) и тектумах показывают области соответствия, т.е. стимуляция пятна 15 на правой сетчатке посылает электрические импульсы к левой текстальной области 15. Черные и белые стрелки обозначают пути световых импульсов в глаз и соответствующие пути стимуляции в тектуме. (По Jacobson, 1967.)

¹ У низших позвоночных — это крыша среднего мозга, а у высших — верхнее двухолмие. — Прим. перев.

рис. 17.37. По мере того как свет перемещается с вентральной к дорсальной поверхности сетчатки, он стимулирует клетки от латеральной к медиальной стороне тектума. Если свет падает на клетки, начиная от заднего конца сетчатки к переднему ее концу, то тектальная стимуляция идет от каудального к ростральному концу. Таким образом, мы видим, что между клетками сетчатки и клетками тектума имеет место топографическое соответствие. Когда активируется небольшая группа клеток сетчатки, то соответственно оказывается возбужденной небольшая группа тектальных клеток. Кроме того, можно видеть, что эти точки образуют континуум; иными словами, соседствующие точки сетчатки проецируются на соседствующие точки тектума. Подобная организация позволяет лягушке видеть нерасчлененное изображение.

Эта усложненная специфичность привела к созданию **гипотезы хемоаффинитета** — химического сродства (или **гипотезы нейральной специфичности**). В 1965 г. Сперри (Sperry, 1965) писал:

«Переплетения нервных волокон мозга растут, объединяются и самоорганизуются благодаря использованию сложных химических кодов под генетическим контролем. Нервные клетки, исчисляющиеся миллионами, приобретают рано в развитии и затем сохраняют индивидуальные идентификационные ярлыки химической природы, при помощи которых их можно распознавать и отличать друг от друга».

Как мы убедились на примере развития конечности, изначально все клетки способны участвовать в формировании любой части конечности, но по мере развития позиционная информация клеток специфицируется.

Джекобсон обнаружил 5-часовой период развития, во время которого происходит детерминация ретино-тектальных осей. Если на ранней стадии развития головастика *Xenopus* (стадия 28) перевернуть его глаз на 180° , так что верхняя сторона глаза окажется внизу, то ретино-тектальные оси останутся нормальными. Иными словами, аксоны новой вентральной поверхности сетчатки проследуют в латеральную сторону тектума, как это следовало ожидать от аксонов неперевернутого глаза. Головастик видит нормально. Если же перевернуть глаз несколько позже — на стадии 30, — то дорсовентральная ось остается прежней, но переднезадняя инвертируется на 180° . Если поворот осуществить на стадии 31 или еще позже, то инвертируются и переднезадняя, и дорсовентральная оси, в результате чего лягушка, желая достать пищу, расположенную чуть выше, будет наклонять голову (рис. 17.38).

Подобный эффект можно наблюдать и в серии экспериментов с ротациями, когда зачатки глаз на разных стадиях пересаживали под разными углами молодым головастикам (рис. 17.39) (Hunt, Jacobson, 1972). Если трансплантат был взят от головастика до стадии 30, то возникала нормальная ретино-тектальная проекция; следовательно, ни одна ось еще не детерминирована. После стадии 30 ретино-тектальные проекции поворачивались по сравнению с нормой в той же степени, в какой был повернут глаз. В случаях трансплантатов со стадии 30 наблюдали разнообразие результатов, в том числе карты с нормальной дорсовентральной осью, но с повернутой переднезадней. Таким образом, мы видим

Рис. 17.38. Поворот сетчатки после стадии 30 вызывает у лягушки затруднения при ловле мух. А. Глаза и зрительные тектумы нормальной лягушки. Б. Глаза и зрительные тектумы лягушки, у которой оба глаза были повернуты на 180° по отношению к переднезадней оси. Проекция мухи и четырех точек на сетчатке обозначены на правом и левом тектумах соответственно. Изображение, проецируемое перевернутым глазом, заставит лягушку ошибиться при определении положения мухи. (По Lund, 1976.)

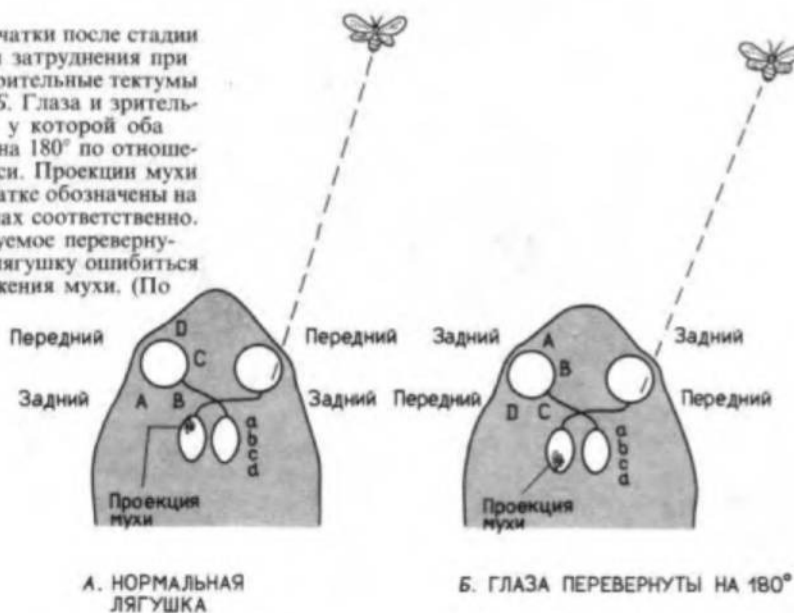




Рис. 17.39. Ориентация ретино-текстальной карты у *Xenopus* после трансплантации зачатка глаза головастiku-хозяину. Глазные зачатки молодых (стадии 22–28) головастиков дают нормальные карты (верхний ряд), будучи трансплантированы в четырех различных ориентациях по отношению к хозяину. Глазные зачатки старших (после стадии 31) головастиков дают карты (нижний ряд), показывающие отклонение от нормы на тот же угол, что и угол смещения глаза по отношению к его нормальному анатомическому положению. (По Hunt, 1975.)

последовательную спецификацию осей, что было уже показано на примере конечности. Следует заметить, что эта спецификация позиционной информации осуществляется задолго до того, как аксоны действительно достигают тектума, что происходит примерно на стадии 40.

Однако и при этих обстоятельствах еще возможна регуляция. Если на стадии 32 сконструировать сложную сетчатку, состоящую из левой половины одной сетчатки и вентральной половины другой, то можно ожидать, что аксоны не будут заходить в ту область тектума, которая в норме получает аксоны из правого дорсального квадранта (к тому же можно было бы предполагать увеличение вдвое числа аксонов, входящих в области, иннервируемые левым вентральным квадрантом, который представлен дважды). Этого, однако, не происходит. Ретино-текстальная проекция от такой сетчатки оказывается нормальной. Точно так же, если удалить половину тектума, то вся проекция сконцентрируется так, чтобы уместиться на меньшей площади (Gaze, 1978). Следовательно, в основе формирования специфичности сетчатки и тектума лежит механизм узнавания градиентного типа. Предположение о том, что каждый нейрон снабжен точным кодом, отличающимся качественно от всех остальных, должно уступить место представлению о градиентах, которые информируют клетки об их относительном положении на дорсовентральной и проксимодистальной осях. В случае развивающегося глаза цыпленка способность к регуляции показана особенно четко. Кроссленд и др. (Crossland et al., 1974) удаляли у куриного

зародыша фрагменты глазной бляшки на разных стадиях развития сетчатки и наблюдали иннервацию тектума оставшимися нейронами. Если части сетчатки были удалены до 3-го дня, то у цыпленка развивалась нормальная текстальная проекция, т.е. оставшиеся нейроны достигали всех областей тектума. Если же эта операция была сделана позже, то удаление частей сетчатки приводило к появлению неиннервированных отделов тектума.

Количество данных, свидетельствующих о наличии функциональных градиентов в сетчатке и тектуме, постоянно возрастает. Различными авторами (Roth, Marchase, 1976; Marchase, 1977) было обнаружено, что клетки, удаленные из вентральной половины нейтральной сетчатки цыпленка, обладают преимущественной адгезией к дорсальным половинам тектума (рис. 17.40). Было также обнаружено (Gottlieb et al., 1976), что нейроны, взятые из наиболее дорсальной части сетчатки цыпленка, имеют преимущественную адгезию в отношении наиболее вентральной области тектума, а самые вентральные нейроны сетчатки – в отношении наиболее дорсальных отделов тектума. Эти результаты нашли подтверждение в других экспериментах, где использовались не нейроны, а концы аксонов (Halfter et al., 1981).

На поверхности клеток нейтральной сетчатки были выявлены градиенты специфических соедине-

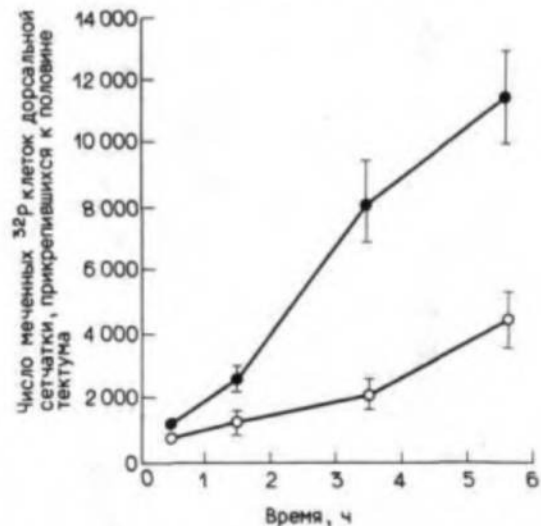


Рис. 17.40. Дифференциальная адгезия дорсальной радиоактивно меченной сетчатки куриного зародыша к дорсальной и вентральной половинам тектума. Радиоактивные клетки дорсальных половин сетчаток 7-дневных куриных зародышей были добавлены к дорсальным (белые кружки) и вентральным (черные кружки) половинам зрительных тектумов 12-дневных куриных зародышей. Данные свидетельствуют об избирательной адгезии клеток дорсальной сетчатки к вентральной текстальной ткани. (По Roth, Marchase, 1976.)

ний, но функции этих соединений пока не известны. При использовании моноклональных антител к клеткам нейральной сетчатки цыпленка удалось обнаружить, что одно антитело локализуется на поверхности сетчатки в виде градиента. Антиген, идентифицированный этим антителом, имеет в 35 раз большую концентрацию в дорсальной области сетчатки, чем у ее вентральной границы (рис. 17.41). Кроме того, те же самые молекулы присутствуют на поверхности клеток зрительного тectума, где градиент противоположен. Поскольку клетки дорсальной сетчатки посылают аксоны к вентральному

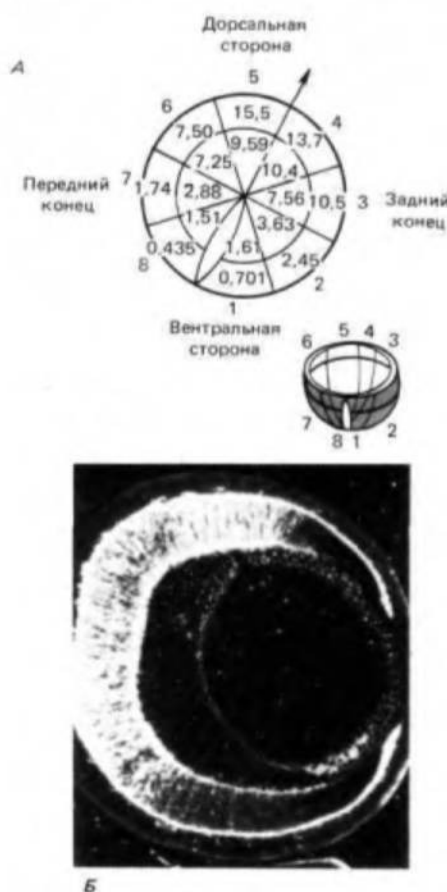


Рис. 17.41. Градиент антигенов на клетках нейральной сетчатки. А. Градиент антигенов, связавшихся с поверхностными молекулами клеток нейральной сетчатки 14-дневного куриного зародыша. Каждая сетчатка была разделена на восемь 45-градусных секторов и подразделена на внутренние и наружные секторы. Затем были добавлены радиоактивные моноклональные антитела. Цифрами обозначено число импульсов в минуту на 1 мг белка. Б. Градиент в сетчатке выявлен с помощью флуоресцирующих моноклональных антител, связывающихся с поверхностными молекулами нейральной сетчатки 13-дневной крысы. (А – по Trisler, 1987. Б – из Constantine-Paton et al., 1986; фотография с лубезного разрешения этих авторов.)

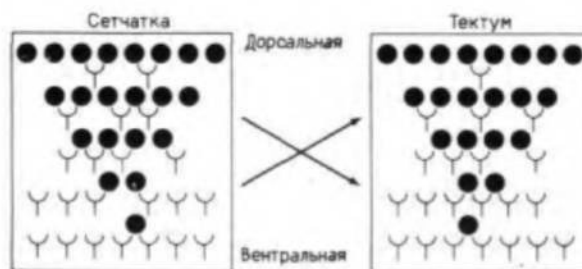


Рис. 17.42. Модель ретино-тектальной специфичности, основанная на взаимодействии двух градиентов комплементарных молекул вдоль дорсовентральной оси. И в сетчатке, и в тектуме один тип молекул сконцентрирован в дорсальной области, а другой – в вентральной области. Поэтому наиболее стабильные связи формируются между дорсальной сетчаткой и вентральным тектумом и наоборот. (По Marchase, 1977.)

тектуму (а клетки вентральной сетчатки проецируются на дорсальный тектум), этот антиген может участвовать в ориентации специфических аксональных связей (Trisler, Collins, 1987). При инъекциях в стекловидную влагу глаза 11-дневного куриного зародыша эти антитела подавляли формирование синапсов (Trisler et al., 1986; Trisler, 1987), что еще раз подтверждало причастность этого топологического асимметричного антигена к нейральному узнаванию. У крысиных зародышей обнаружен другой антиген, образующий на сетчатке дорсовентральный градиент (рис. 17.41, Б) (Constantine-Paton et al., 1986). По своему строению этот антиген кажется вообще не связанным с антигеном клеток сетчатки цыпленка.

Исследуется также и биохимия подобных градиентов. Были предприняты попытки свести на нет различия в способности дорсальной и вентральной половин тектума связывать дорсальные клетки сетчатки, используя серию ферментов (Marchase, 1977). Это удалось при обработке либо дорсальных клеток сетчатки, либо дорсальных половин тектума ферментом гексозаминидазой, которая специфически отщепляет *N*-ацетилгексоамины от концов гликопротеинов или гликолипидов. Тот же самый фермент оказывал незначительное воздействие на вентральные клетки как тектума, так и сетчатки. Модель Марчейза, представленная на рис. 17.42, демонстрирует два типа молекул, распределенных в виде противоположных градиентов на клеточных поверхностях сетчатки и тектума. Первый градиент – это градиент гликопротеина (или гликолипида), несущего *N*-ацетилгалактозамин. Это вещество представляет собой сахар, узнаваемый ферментом, нарушающим специфичность ретино-тектального связывания *in vitro*. Концентрация этого вещества наиболее высока в дорсальных частях и сетчатки, и тектума. Второй градиент состоит из молекул, способных

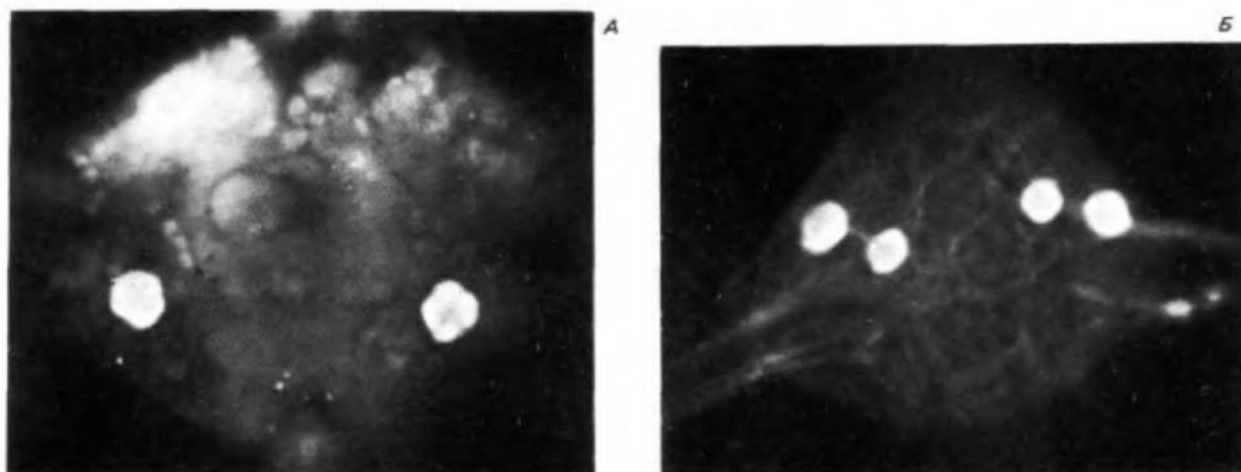


Рис. 17.43. Специфические функциональные нейроны, маркированные моноклональными антителами к компонентам клеточной поверхности. А. Антитела Lan 3-1 узнают единственную пару нейронов в определенном ганглии. Функция этих нейронов связана с выворачиванием полового органа. Б. Набор нейронов, узнаваемых антителами Lan 3-2; эти нейроны отвечают на повреждающее стимулирование кожи пиявки. (Из Zipser, McKay, 1981; с любезного разрешения В. Zipser.)

распознавать *N*-ацетилгалактозамин. Предполагается, что это гликозилтрансфераза – фермент, способный образовывать с *N*-ацетилгалактозамином комплекс по типу ключ – замок. Таков механизм специфического узнавания дорсальной части сетчатки вентральной областью тектума и наоборот.

КАЧЕСТВЕННЫЕ РАЗЛИЧИЯ МЕЖДУ НЕЙРОНАМИ. Предыдущая модель представляет собой гипотезу количественного типа, согласно которой все клетки снабжены одним и тем же клеем, но в разных количествах. Эти представления могут быть полезны для объяснения общего направления роста аксонов, но сомнительно, чтобы код такого рода мог точно указать специфические места назначения. Исследования, выполненные на других организмах, свидетельствуют о том, что каждый нейрон может иметь качественно различные молекулы клеточной поверхности, и эти молекулы могут играть важную роль в установлении синаптической специфичности. Так, нервная система пиявки представлена 34 спаренными ганглиями, в состав каждого из которых входит около 400 нейронов. Индивидуальные нейроны идентифицированы, функции многих нейронов известны. После инъектирования мышей материалом

нервной системы пиявки (Zipser, McKay, 1981) были получены сотни моноклональных антител, связывающихся с различными отделами нервной системы. Из 300 исходных моноклональных антител 41 узнавало разные отделы нервной системы пиявки, что свидетельствует о различиях клеточных поверхностей нейронов. В некоторых случаях эти различия коррелируют с функциями. Моноклональные антитела Lan 3-1 специфически связывались с единственной парой нейронов срединных ганглиев и узнавали в каждом ганглии такие же правый и левый нейроны (рис. 17.43). Известно, что эти пары нейронов контролируют процесс выворачивания полового органа у спаривающихся пиявок. Другие моноклональные антитела – Lan 3-2 – узнавали все четыре нейрона, отвечающие на повреждающие механические стимулы. «Эта ситуация, – пишут Зипсер и Мак-Кей, – кажется совершенно аналогичной разноцветному электрическому кабелю, состоящему из многочисленных помеченных цветом проводов, где каждый провод снабжен собственной молекулой (краской), чтобы легче было узнать его и правильно соединить концы».

Дополнительные сведения и гипотезы

Адреса-маркеры клеточной поверхности и миграция лимфоцитов

Представление о том, что специфические маркеры клеточной поверхности обуславливают миграцию аксонов и установление связей между ними,

остается пока гипотетическим, однако известен по крайней мере один случай, когда в эмбриогенезе взаимодействие клеточных поверхностей определяет

конечный результат миграции. Зрелые лимфоциты — подвижные клетки, постоянно циркулирующие между лимфоидными органами, — а именно селезенкой, миндалинами и связанной с кишечником лимфатической тканью, посредством кровеносной и лимфатической систем. Каким-то образом лимфоциты должны узнавать, когда и где им следует покинуть кровеносное русло и войти в лимфоидный орган. Более того, определенные лимфоциты мигрируют лишь в определенные органы, например только в лимфатические узлы или лимфоидную ткань, связанную с кишечником. В-клетки предпочитают оседать в лимфатической ткани, связанной с кишечником, тогда как Т-клетки заселяют периферические узлы. В основе механизма такой специфичности лежит, по-видимому, способность клеток особым образом взаимодействовать с эндотелиальными клетками, выстилающими кровеносные сосуды, которые обслуживают эти органы. Этот эндотелий обнаружен в **наружных эндотелиальных венах (НЭВ)**, располагающихся сразу за капиллярной сетью этих органов. Некоторые лимфоциты связываются *in vitro* с НЭВ лимфоидной ткани, связанной с кишечником, тогда как другие предпочитают НЭВ периферических узлов. Иммунизируя мышей злокачественными лимфоцитами, в норме специфически связывающимися с НЭВ периферических узлов, Галлатин и др. (Gallatin et al., 1983, 1986) получили моноклональные антитела, блокирующие специфическую адгезию лимфоцитов к НЭВ периферических узлов. После того как мышинные лимфоциты обрабатывали этими антителами, лимфоциты сохраняли способность связываться лимфоидной тканью кишечника, но их способность к связыванию с НЭВ периферических узлов почти полностью утрачивалась (рис. 17.44). Было показано, что эти антитела узнают на поверхности лимфоцитов белок с молекулярной массой 80 000 дальтон. Таким образом, очевидно, что это именно тот белок на поверх-

ности лимфоцитов, который отвечает за взаимодействие с НЭВ периферических узлов; блокирование этого белка антителами ингибирует специфическую адгезию лимфоцитов к этим НЭВ.

Итак, миграция клеток к специфическим органам коррелирована со специфическим взаимодействием клетка — клетка.

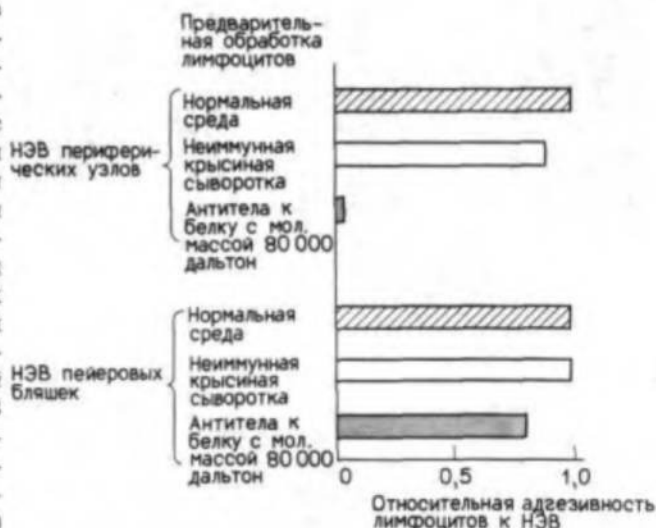


Рис. 17.44. Предварительная обработка лимфоцитов моноклональными антителами против специфического белка с молекулярной массой 80 000 дальтон блокирует их нормальное связывание с НЭВ периферических узлов, но не блокирует связывание с НЭВ пейеровых бляшек. Лимфоциты обрабатывали нормальной средой, средой с неиммунной крысиной сывороткой или средой, содержащей антитела к специфическому белку. Затем обработанные таким образом лимфоциты отмывали от среды и несвязавшихся антител и инкубировали с замороженными срезами НЭВ. После инкубации срезы промывали и прикрепившиеся клетки подсчитывали. (По Gallatin et al., 1983.)

Развитие поведения

Один из наиболее волнующих аспектов нейробиологии касается корреляции определенных нервных связей с теми или иными поведенческими реакциями. Не менее впечатляющи наблюдения, свидетельствующие о том, что многие типы поведения являются врожденными, находясь «на вооружении» мозга при рождении. Например, 19-дневный куриный зародыш реагирует на материнский сигнал тревоги тем, что у него учащается сердцебиение; никакие другие сигналы не вызывают такой реакции (Gottlieb, 1965). Более того, только что вылупившийся цыпленок немедленно поспешит в укрытие

при появлении тени ястреба. При этом нет необходимости в настоящем ястребе: такой ответ может провоцировать даже тень от бумажного силуэта ястреба, — но только ястреба, а не какой-либо другой птицы (Tinbergen, 1951). Следовательно, у высших позвоночных должны существовать определенные нервные связи, обуславливающие врожденное поведение.

Некоторые из наиболее интересных исследований, касающихся организации нервной системы у млекопитающих, связаны с изучением эффектов сенсорной депривации при развитии зрительной системы у котят и обезьян. Пути, по которым электрические импульсы у млекопитающих направляются

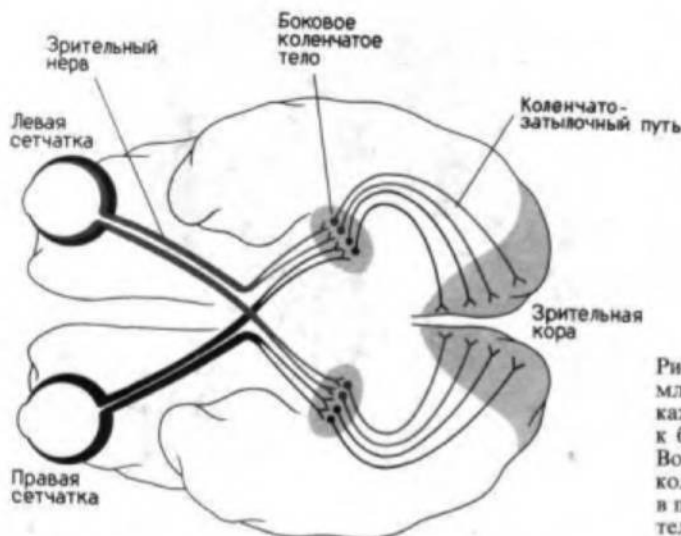


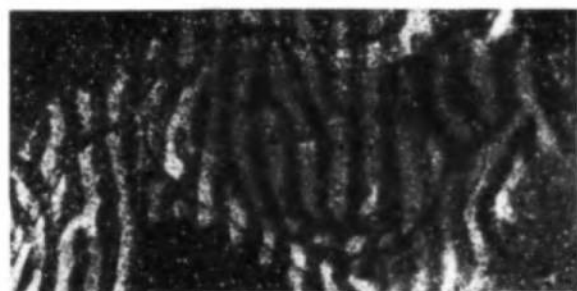
Рис. 17.45. Основные проводящие пути зрительной системы млекопитающих. У млекопитающих зрительный нерв от каждого глаза разветвляется, посылая нервные волокна к боковому коленчатому телу на каждой стороне мозга. Волокна от левой стороны обеих сетчаток входят в левое коленчатое тело, а волокна от их правой стороны входят в правое коленчатое тело. Волокна из боковых коленчатых тел входят в зрительную кору каждый со своей стороны.

от сетчатки к мозгу, представлены на рис. 17.45. Аксоны ганглиозных клеток сетчатки образуют два зрительных нерва, встречающихся в зрительном перекресте. Как и у головастика *Xenopus*, некоторые из волокон идут на противоположную (**контралатеральную**) сторону мозга, но в отличие от большинства других позвоночных клетки сетчатки у млекопитающих посылают нервные волокна в ту же самую (**ипсилатеральную**) сторону мозга. Эти нервы заканчиваются в двух **боковых коленчатых телах**. Здесь проводящие пути от каждого глаза обособлены друг от друга — в самую верхнюю и переднюю область идут волокна от контралатерального глаза, а в среднюю область — волокна от ипсилатерального глаза. Ситуация усложняется еще более благодаря тому, что нейроны боковых коленчатых тел, связаны с нейронами **зрительной коры**. Более 80% нервных клеток зрительной коры соединены проводящими путями с обоими глазами. Этим обеспечивается бинокулярное зрение и глубина восприятия. Еще одно замечательное открытие заключается в том, что ретино-кортикальная проекция оказывается одной и той же для обоих глаз. Если кортикальный нейрон стимулирован вспышкой света через область левого глаза под углом 5° над и 1° левее зрительного нерва, то он будет также стимулирован вспышкой света через область правого глаза под углом 5° выше и 1° левее от зрительного нерва. Более того, ответная реакция, возникающая в клетке коры при стимуляции обоих глаз сильнее, чем при стимуляции каждого глаза по отдельности.

Хьюбел и др. (Hubel, 1967) показали, что развитие нервной системы в определенной степени зависит от индивидуального опыта во время критического периода развития. Другими словами, не все, что характеризует развитие нервной системы, зако-

дировано в геноме: некоторые черты появляются в процессе обучения. Опыт, по-видимому, усиливает или стабилизирует нервные связи, уже существующие при рождении. Основаниями для этих заключений послужили эксперименты с частичным блокированием сенсорной информации. В своих опытах Хьюбел и его коллеги зашивали веки правых глаз у новорожденных котят, оставляя их закрытыми на 3 месяца, после чего швы с век снимали. У таких котят клетки коры не стимулировались импульсами от правого глаза. Практически все сигналы в зрительную кору шли от левого глаза, и в поведении котят проявилась неполноценность их правых глаз. Если у таких котят закрывали левые глаза, то котят оказывались функционально слепыми. Поскольку нейроны бокового коленчатого тела получают стимулы от обоих глаз — и правого, и левого, — можно полагать, что физиологический дефект возникает между боковыми коленчатыми телами и зрительной корой. У макаков-резусов наблюдалось аналогичное явление; в этом случае дефект коррелировал с недостаточным синтезом белка нейронами бокового коленчатого тела, к которому подходили нервные волокна от закрытого глаза (Kennedy et al., 1981).

Напрашивается вывод о том, что причиной развивающейся в эксперименте слепоты послужило отсутствие способности устанавливать нужные зрительные связи. Однако это не так. Котята скорее всего рождаются со всеми установившимися необходимыми нервными связями в зрительной системе (Hubel, Wiesel, 1963). Все дело в том, что если на раннем этапе жизни котенка или обезьяны один глаз остается закрытым, его связи со зрительной корой устанавливает другой глаз (рис. 17.46). Происходит конкуренция, и роль опыта заключается в усилении



А



Б

Рис. 17.46. Темнопольные радиоавтографы стриатной коры обезьяны через 2 недели после того, как в стекловидную влагу одного глаза был инъецирован ^3H -пролин. Каждый нейрон сетчатки включает радиоактивную метку и переносит ее в клетки, с которыми образует синапсы. А. Нормальное включение метки. Белые полосы означают, что примерно половина нервных пучков включает метку, тогда как другая половина не включает; характер такого мечения свидетельствует о том, что половина клеток иннервируется меченым глазом, а другая половина — немеченым. Б. Включение метки в случае, когда немеченый глаз был в течение 18 мес закрыт наложением швов. Аксонные проекции от нормального (меченого) глаза располагаются над областями, которые в норме иннервируются закрытым глазом. (Из Wiesel, 1982; фотография с любезного разрешения Т. Wiesel.)

связей от одного или от другого глаза. Таким образом, если у котенка на 3 месяца закрыть оба глаза, то их зрительная система останется интактной. Функциональны оба глаза. У котенка критическим периодом для оценки нейтральных связей является период с четвертой по шестую неделю. Монокулярное зрение вплоть до четвертой недели вызывает небольшой физиологический дефект или вообще не вызывает физиологического дефекта, но

после шестой недели развиваются характерные нейральные изменения. Итак, в развитии зрительной системы млекопитающих просматриваются еще два принципа. Во-первых, нервные связи, обеспечивающие зрение, уже присутствуют еще до того, как животное начинает видеть; во-вторых, опыт играет важную роль для определения дальнейшей судьбы данных связей.

Дополнительные сведения и гипотезы

Морфогенез путем специфической гибели клеток

При развитии нервной системы, как и при развитии конечности, важную роль в формировании окончательной пространственной организации играет гибель клеток. Почти во всех отделах развивающейся нервной системы позвоночных происходит избыточное образование нейронов, которые затем в определенных областях погибают. Это явление способствует становлению стратификации, характерной для тканей центральной нервной системы. Кроме того, наблюдается резкое уменьшение числа аксонов, иннервирующих периферические ткани. Такая редукция ведет к тому, что аксоны, ветвление которых обеспечивало иннервацию нескольких мишеней, ограничиваются иннервацией одной-единственной мишени. В этом легко убедиться

на примере элиминации мышечных синапсов плода. Иннервация мышц плода или новорожденного значительно отличается от иннервации мышц взрослых животных (рис. 17.47). У взрослых млекопитающих каждый двигательный аксон стимулирует единственное мышечное волокно при помощи нескольких соединений. Однако у новорожденных млекопитающих каждый аксон может иннервировать несколько различных мышечных волокон (Redfern, 1970; Bagust, 1973). Такое сокращение аксонных соединений происходит в течение первых недель жизни.

Возможно, эта элиминация определяется конкуренцией за нейротрофические факторы, продуцируемые тканью-мишенью, и активностью нейрона.

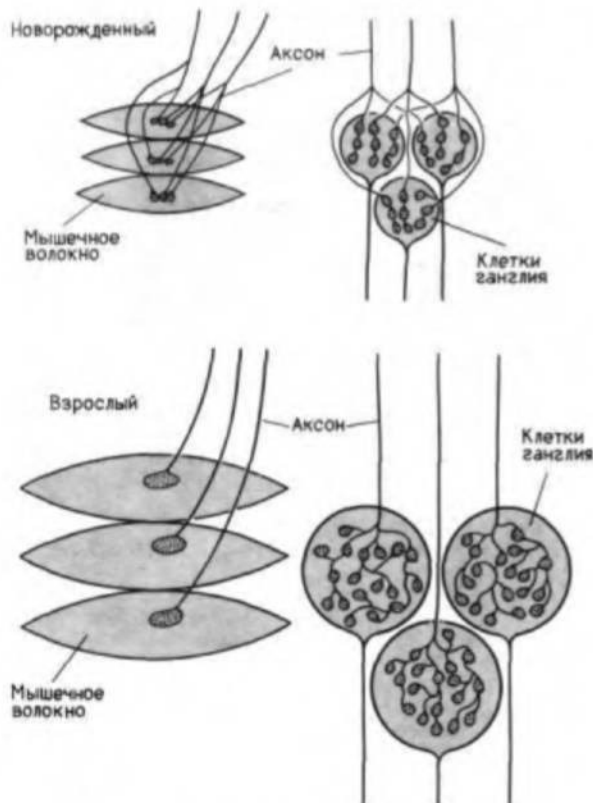
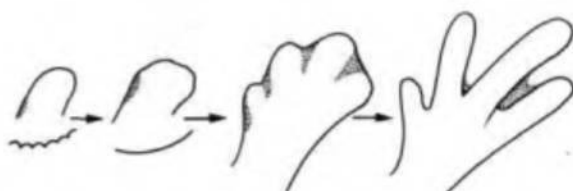


Рис. 17.47. Схема элиминации синапсов в развивающихся скелетной мышце (слева) и симпатических ганглиях (справа). У новорожденного млекопитающего каждый аксон стимулирует несколько мышечных волокон или ганглиозных клеток; у взрослых млекопитающих, однако, каждый аксон стимулирует лишь одно волокно или одну клетку. (По Purves, Lichtman, 1985.)

Чем выше активность, тем сильнее конкуренция и тем скорее элиминируются избыточные синапсы. Пурвес и Лихтман (Purves, Lichtman, 1980; Lichtman, Purves, 1983) предположили, что именно несбалансированная активность ведет к конкуренции и элиминации синапсов у котят с экспериментальным одноглазием и что нормальная несбалансированная активность таким же образом служит причиной элиминации синапсов в других отделах нервной системы. Согласно этим представлениям, существует своего рода «естественный отбор», в результате которого наиболее интенсивно используемые синапсы будут продолжать свое функционирование и сохранятся. Идея такой конкуренции впервые была высказана Ру в 1881 г., но до сих пор не принималась всерьез. Элиминация лишних синапсов может обусловить у взрослого организма более

эффективные ответы, а прогрессирующее ограничение аксонов единственной мишенью может быть причиной снижения пластичности нервной системы, которая наблюдается в детстве.

Гибель клеток играет существенную роль в формировании конечностей, сердца и скелета. В развитии животных есть примеры, с очевидностью свидетельствующие о том, что гибель клеток может быть генетически запрограммирована и сохранена отбором в ходе эволюции. Один из таких примеров — наличие или отсутствие перепонки на конечностях. Ноги утки и курицы отличаются друг от друга дифференциальной гибелью или сохранностью клеток между пальцами (рис. 17.48). Полагают, что гибель клеток играет важную роль в обособлении лучевой и локтевой костей. Саундерс и др. (Saunders et al., 1962) обнаружили, что после определенной стадии развития клетки, обреченные на гибель, будут погибать даже в том случае, если их пересадить в другие области зародыша; пересадка клеток до этой критической стадии может спасти их. В период между временем, когда происходит детерминация гибели клеток, и временем, когда эта гибель осуществляется фактически, наблюдается резкое снижение уровня синтеза ДНК, РНК и белка (Pollak, Fallon, 1976).



А. ЗАЧАТОК НОГИ КУРИНОГО ЗАРОДЫША
Экстенсивная гибель клеток



Б. ЗАЧАТОК НОГИ УТИНОГО ЗАРОДЫША
Минимальная гибель клеток

Рис. 17.48. Картина гибели клеток в зачатке ноги куриного зародыша (А) и зародыша утки (Б). Затемнены области гибели клеток. (По Saunders, Fallon, 1966.)

ЛИТЕРАТУРА

- Akers R.M., Mosher D.E., Lilien J.E. (1981). Promotion of retinal neurite outgrowth by substratum-bound fibronectin, *Dev. Biol.*, **86**, 179–188.
- Angeletti P., Vignetti E. (1971). Assay of nerve growth factor (NGF) in subcellular fractions of peripheral tissues by microcomplement fixation, *Brain Res.*, **33**, 601–604.
- Baquist J., Lewis D.M., Westerman R.A. (1973). Polyneuronal innervation of kitten skeletal muscle, *J. Physiol. (Lond.)*, **229**, 241–255.
- Bastiani M.J., Harrelson A.L., Snow P.M., Goodman C.S. (1987). Expression of fasciclin I and II glycoproteins on subsets of axon pathways during neuronal development in the grasshopper, *Cell*, **48**, 745–755.
- Berking S. (1979). Analysis of head and foot formation in hydra by means of an endogenous inhibitor, *Wilhelm Roux Arch. Entwicklungsmech. Org.*, **186**, 189–210.
- Berlot J., Goodman C.S. (1984). Guidance of peripheral pioneer neurons in the grasshopper: Adhesive hierarchy of epithelial and neuronal surfaces, *Science*, **223**, 493–496.
- Bode P.M., Bode H.R. (1984). Patterning in *Hydra*. In: G.M. Malacinski and S.V. Bryant (eds.), *Pattern Formation*, Macmillan, New York, pp. 213–241.
- Boveri T. (1901). Über Polarität des Seeigels, *Eisverh. Phys. Med. Ges. (Würzburg)*, **34**, 145–175.
- Breitman T.R., Selonick S.E., Collins S.J. (1980). Induction of differentiation of the human promyelocytic leukemia cell line (HL-60) by retinoic acid, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**, 2936–2940.
- Brockes J.P., Kinter C.R. (1986). Glial growth factor and nerve-dependent proliferation in the regeneration blastema of urodele amphibians, *Cell*, **45**, 301–306.
- Browne E.N. (1909). The production of new hydranths in *Hydra* by the insertion of small grafts, *J. Exp. Zool.*, **7**, 1–23.
- Bryant S.V., French V., Bryant P.J. (1981). Distal regeneration and symmetry, *Science*, **212**, 993–1002.
- Bryant S.V., Iten L.E. (1976). Supernumerary limbs in amphibians: Experimental production in *Notophthalmus viridescens* and a new interpretation of their formation, *Dev. Biol.*, **50**, 212–234.
- Butler E.G. (1935). Studies on limb regeneration in X-rayed *Ambystoma* larvae, *Anat. Rec.*, **62**, 295–307.
- Campbell R.D. (1967). Tissue dynamics of steady-state growth in *Hydra littoralis*. II. Patterns of tissue movement, *J. Morphol.*, **121**, 19–28.
- Carlson B.M. (1972). Muscle morphogenesis in axolotl limb regenerates after removal of stump musculature, *Dev. Biol.*, **28**, 487–497.
- Child C.M. (1941). *Patterns and Problems of Development*, University of Chicago Press, Chicago.
- Cohan C.S., Kater S.B. (1986). Suppression of neurite elongation and growth cone motility by electrical activity, *Science*, **232**, 1638–1640.
- Constantine-Paton M., Blum A.S., Mendez-Otero R., Barnstable C.J. (1986). A cell surface molecule distributed in a dorsoventral gradient in the perinatal rat retina, *Nature*, **324**, 459–462.
- Crawford K., Stocum D.L. (in press). Pattern and cell recognition property in regenerating limbs are coordinately proximalised by retinoic acid, *Development*.
- Crick F.H. (1970). Diffusion in embryogenesis, *Nature*, **225**, 420–422.
- Crossland W.J., Cowan W.M., Rogers C.A., Kelly J. (1974). The specification of the retinal-ectal projection in the chick, *J. Comp. Neurol.*, **155**, 127–164.
- Davies A.M., Bandtlow C., Heumann R., Kosching S., Rohrer H., Thoenen H. (1987). Timing and site nerve growth factor synthesis in developing skin in relation to innervation and expression of the receptor, *Nature*, **326**, 353–358.
- Detwiler S.R. (1918). Experiments of the development of the shoulder girdle and the anterior limb of *Amblystoma punctatum*, *J. Exp. Zool.*, **25**, 499–538.
- Ebendal T., Hedlund K.-O., Norrgran G. (1982). Nerve growth factor in chick tissues, *J. Neurosci. Res.*, **8**, 153–164.
- Eisen J., Meyers P.Z., Westerfield M. (1986). Pathway selection by growth cones of identified motoneurons in live zebra fish embryos, *Nature*, **320**, 269–271.
- Fell H.B., Mellanby E. (1953). Metaplasia produced in cultures of chick ectoderm by high vitamin A, *J. Physiol.*, **119**, 470–488.
- Fraser S.E., Green C.R., Bode H.R., Gilula N.B. (1987). Selective disruption of gap junctional communication interferes with a patterning process in hydra, *Science*, **237**, 49–55.
- French V., Bryant P.J., Bryant S.V. (1976). Pattern regulation in epimorphic fields, *Science*, **193**, 969–981.
- Frolik C.A. (1984). Metabolism of retinoids. In: M.B. Sporn, A.B. Roberts, and D. Goodman (eds.), *The Retinoids*, Vol. 2, Academic, New York, pp. 177–208.
- Gallatin W.M., St. John T.P., Siegelman M., Reichert R., Butcher E.C., Weissman I.L. (1986). Lymphocyte homing receptors, *Cell*, **44**, 673–680.
- Gallatin W.M., Weissman I.L., Butcher E.C. (1983). A cell surface molecule involved in organ-specific homing of lymphocytes, *Nature*, **304**, 30–35.
- Gaze R.M. (1978). The problem of specificity in the formation of nerve connections. In: D.R. Garrod (ed.), *Specificity of Embryological Interactions*, Chapman and Hall, London, pp. 51–96.
- Gershon M.D., Schwartz J.H., Kandel E.R. (1985). Morphology of chemical synapses and pattern of interconnections. In: E.R. Kandel and J.H. Schwartz, *Principles of Neural Science*, 2nd Ed. Elsevier, New York, pp. 132–147.
- Goodman C.S., Bastiani M.J., Doe C.Q., du Lac S., Helfand S.L., Kuwada J.Y., Thomas J.B. (1984). Cell recognition during neuronal development, *Science*, **225**, 1271–1287.
- Goodman C.S., Bastiani M.J. (1984). How embryonic nerve cells recognize one another, *Sci. Am.*, **251**(6), 58–66.
- Goss R.J. (1969). *Principles of Regeneration*, Academic, New York.
- Gottlieb D.I., Rock K., Glaser L. (1976). A gradient of adhesive specificity of developing avian retina, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **73**, 410–414.
- Gottlieb G. (1965). Prenatal auditory sensitivity in chickens and ducks, *Science*, **147**, 1596–1598.
- Grimmelikhuijzen C.J.P., Schaller H.C. (1977). Isolation of a substance activating food formation in hydra, *Cell Differ.*, **6**, 297–305.
- Gundersen R.W. (1987). Response of sensory neurites and growth cones to patterned substrata of laminin and fibronectin in vitro, *Dev. Biol.*, **121**, 423–431.
- Halfter W., Claviez M., Schwarz U. (1981). Preferential adhesion of tectal membranes to anterior embryonic chick retina neurites, *Nature*, **292**, 67–70.
- Hamburger V. (1938). Morphogenetic and axial self-differentiation of transplanted limb primordia of 2-day chick embryos, *J. Exp. Zool.*, **77**, 379–400.
- Hamburger V. (1939). The development and innervation of transplanted limb primordia of chick embryos, *J. Exp. Zool.*, **80**, 347–389.
- Hamburger V., Bruno-Bechtold J.K., Yip J.W. (1981). Neuronal death in the spinal ganglia of the chick embryo and its reduction by nerve growth factor, *J. Neurosci.*, **1**, 60–71.
- Harris W.A. (1986). Homing behavior of axons in the embryonic vertebrate brain, *Nature*, **320**, 266–269.
- Harrison R.G. (1910). The outgrowth of the nerve fiber as a mode of protoplasmic movement, *J. Exp. Zool.*, **9**, 787–848.
- Harrison R.G. (1918). Experiments on the development of the

- forelimb of *Amblystoma*, a self-differentiating equipotential system, *J. Exp. Zool.*, **25**, 413-461.
- Haydon P.G., Cohan C.S., McCobb D.P., Miller H.R., Kater S.B. (1985). Neuron-specific growth cone properties as seen in identified neurons of *Helisoma*, *J. Neurosci. Res.*, **13**, 135-147.
- Hertwig G. (1925). Haploidekernige Transplante als Organisationsorgan diploidekerniger Extremitäten bei *Triton*, *Anat. Anz. [Suppl.]*, **60**, 112-118.
- Hicklin J., Wolpert L. (1973). Positional information and pattern regulation in hydra: Formation of the foot end, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **30**, 727-740.
- Hinchliffe J.R., Sanson A. (1985). The distribution of the polarizing zone (ZPA) in the legbud of the chick embryo, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **86**, 169-175.
- Hollyday M. (1980). Motoneuron histogenesis and the development of limb innervation, *Curr. Top. Dev. Biol.*, **15**, 181-215.
- Hollyday M., Hamburger V., Farris J.M.G. (1977). Localization of motor neuron pools supplying identified muscles in normal and supernumerary legs of chick embryos, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **74**, 3582-3586.
- Honig L.S., Summerbell D. (1985). Maps of strength of positional signaling activity in the developing chick wing bud, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **87**, 163-174.
- Hubel D.H. (1967). Effects of distortion of sensory input on the visual system of kittens, *Physiologist*, **10**, 17-45.
- Hubel D.H., Wiesel T.N. (1963). Receptive fields of cells in striate cortex of very young, visually inexperienced kittens, *J. Neurophysiol.*, **26**, 944-1002.
- Hunt R.K. (1975). Developmental program for retinotectal patterns, *Ciba Found. Symp.*, **29**, 131-150.
- Hunt R.K., Jacobson M. (1972). Development and stability of positional information in *Xenopus* retinal ganglion cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **69**, 780-783.
- Iten L.E. (1982). Pattern specification and pattern regulation in the embryonic chick limb bud, *Am. Zool.*, **22**, 117-129.
- Iten L.E., Bryant S.V. (1975). The interaction between blastema and stump in the establishment of the anterior-posterior and proximal distal organization of the limb regenerate, *Dev. Biol.*, **44**, 119-147.
- Jacobson M. (1967). Retinal ganglion cells: Specification of central connections in larval *Xenopus laevis*, *Science*, **155**, 1106-1108.
- Javois L.C., Wood R.D., Bode H.R. (1986). Patterning of the head in hydra as visualized by a monoclonal antibody. I. Budding and regeneration, *Dev. Biol.*, **117**, 607-618.
- Kater S.B. (1985). Dynamic regulators of neuronal form and conductivity in the adult snail *Helisoma*. In: A.L. Selverston (ed.), *Model Neural Networks and Behavior*, Plenum, New York, pp. 191-209.
- Kennedy C., Suda S., Smith C.B., Miyaoka M., Ito M., Sokoloff L. (1981). Changes in protein synthesis underlying functional plasticity in immature monkey visual system, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**, 3950-3953.
- Kochhar D.M. (1977). Cellular basis of congenital limb deformity induced in mice by vitamin A. In: D. Bergsma and W. Lenz (eds.), *Morphogenesis and Malformation of the Limb*, Alan R. Liss, New York, pp. 111-154.
- Lance-Jones C., Landmesser L. (1980). Motoneuron projection patterns in chick hindlimb following partial reversals of the spinal cord, *J. Physiol.*, **302**, 581-602.
- Landmesser L. (1978). The development of motor projection patterns in the chick hindlimb, *J. Physiol.*, **284**, 391-414.
- Levi-Montalcini R. (1976). The nerve-growth factor: Its role in growth, differentiation, and formation of the sympathetic adrenergic neuron, *Prog. Brain Res.*, **45**, 235-258.
- Lichtman J.W., Purves D. (1983). Activity-mediated neural change, *Nature*, **301**, 563-564.
- Lumsden A.G.S., Davies A.M. (1983). Earliest sensory nerve fibers are guided to peripheral targets by attractants other than nerve growth factor, *Nature*, **306**, 786-788.
- Lumsden A.G.S., Davies A.M. (1986). Chemotropic effect of specific target epithelium in the developing mammalian nervous system, *Nature*, **323**, 538-539.
- Lund R.D. (1976). *Development and Plasticity of the Brain: An Introduction*, Oxford University Press, New York.
- MacWilliams H.K. (1983a). Hydra transplantation phenomena and the mechanism of hydra head regeneration. I. Properties of head inhibition, *Dev. Biol.*, **96**, 217-238.
- MacWilliams H.K. (1983b). Hydra transplantation phenomena and mechanism of hydra head regeneration. II. Properties of head activation, *Dev. Biol.*, **96**, 239-272.
- MacWilliams H.K., Kafatos F.C. (1974). The basal inhibition of hydra may be mediated by a diffusible substance, *Am. Zool.*, **14**, 633-645.
- Maden M. (1982). Vitamin A and pattern formation of the regenerating limb, *Nature*, **295**, 672-675.
- Maden M. (1984). Retinoids as probes for investigating the molecular basis of pattern formation. In: G.M. Malacinski and V. Bryant (eds.), *Pattern Formation*, Macmillan, New York, pp. 539-555.
- Maden M., Summerbell D. (1986). Retinoic acid-binding protein in the chick limb bud: Identification at developmental stages and binding affinities of various retinoids, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **97**, 239-250.
- Marchase R.B. (1977). Biochemical investigations of retinotectal adhesive specificity, *J. Cell Biol.*, **75**, 237-257.
- Mescher A.L., Tassava R.A. (1975). Denervation effects on DNA replication and mitosis during the initiation of limb regeneration in adult newts, *Dev. Biol.*, **44**, 187-197.
- Muneoka K., Bryant S.V. (1982). Evidence that patterning mechanisms in developing and regenerating limbs are the same, *Nature*, **298**, 369-371.
- Nardi J.B. (1983). Neuronal pathfinding in developing wings of the moth *Manduca sexta*, *Dev. Biol.*, **95**, 163-174.
- Nardi J.B., Stocum D.L. (1983). Surface properties of regenerating limb cells: Evidence for gradation along the proximo-distal axis, *Differentiation*, **25**, 27-31.
- Newman S.A. (1974). The interaction of the organizing regions in hydra and its possible relation to the role of the cut end in regeneration, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **31**, 541-555.
- Niazi I.A., Saxena S. (1978). Abnormal hind limb regeneration in tadpoles of the toad *Bufo anderssonii* exposed to excess vitamin A, *Folia Biol. (Krakow)*, **26**, 3-8.
- Nijhout H.F. (1981). The color patterns of butterflies and moths, *Sci. Am.*, **245** (5), 140-151.
- Pollack E.D., Muhlach W.L. (1981). Stage dependency in eliciting target-dependent enhanced neurite outgrowth from spinal cord explants in vitro, *Dev. Biol.*, **86**, 259-263.
- Pollack R.D., Fallon J.F. (1976). Autoradiographic analysis of macromolecular synthesis in prospectively necrotic cells of the chick limb bud. II. Nucleic acids, *Exp. Cell Res.*, **100**, 15-22.
- Purves D., Lichtman J.W. (1980). Elimination of synapses in the developing nervous system, *Science*, **210**, 153-157.
- Purves D., Lichtman J.W. (1985). *Principles of Neural Development*, Sinauer, Sunderland, MA.
- Rand H.W., Board J.F., Minnich D.E. (1926). Localization of formative agencies in hydra, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **12**, 565-570.
- Redfern P.A. (1970). Neuromuscular transmission in newborn rats, *J. Physiol.*, **209**, 701-709.
- Rose S.M. (1962). Tissue-arc control of regeneration in the amphibian limb. In: D. Rudnick (ed.), *Regeneration*, Ronald, New York, pp. 153-176.
- Rosenquist G.C. (1971). The origin and movement of the limb-bud epithelium and mesenchyme in the chick embryo as determined by radioautographic mapping, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **25**, 85-96.

- Roth S., Marchase R.B. (1976). An in vitro assay for retinotectal specificity. In: S.H. Barondes (ed.), *Neuronal Recognition*, Plenum, New York, pp. 227-248.
- Roux W. (1881). *Der Kampf der Theile im Organismus*. Ein Beitrag zur Vervollständigung der mechanischen Zweckmässigkeitslehre, W. Engelmann, Leipzig.
- Rubin L., Saunders J.E., Jr. (1972). Ectodermal-mesodermal interactions in the growth of limbs in the chick embryo; Constancy and temporal limits of the ectodermal induction, *Dev. Biol.*, **28**, 94-112.
- Saunders J.W., Jr. (1948). The proximal-distal sequence of origin of the parts of the chick wing and the role of the ectoderm, *J. Exp. Zool.*, **108**, 363-404.
- Saunders J.W., Jr. (1982). *Developmental Biology*, Macmillan, New York.
- Saunders J.W., Jr., Fallon J.F. (1966). Cell death in morphogenesis. In: M. Locke (ed.), *Major Problems of Developmental Biology*, Academic, New York, pp. 289-314.
- Saunders J.W., Jr., Gasseling M.T. (1968). Ectodermal-mesodermal interactions in the origin of limb symmetry. In: R. Fleischmajer and R.E. Billingham (eds.), *Epithelial-Mesenchymal Interactions*, Williams and Wilkins, Baltimore, pp. 78-97.
- Saunders J.W., Jr., Gasseling M.T., Saunders L.C. (1962). Cellular death in morphogenesis of the avian wing, *Dev. Biol.*, **5**, 147-178.
- Scadding S.R., Maden M. (1986). The effects of local application of retinoic acid on limb development and regeneration in tadpoles of *Xenopus laevis*, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **91**, 55-63.
- Schaller H.C., Schmidt T., Grimmelikhuijzen C.J.P. (1979). Separation and specificity of action of four morphogens from hydra, *Wilhelm Roux Arch. Entwicklungsmech. Org.*, **186**, 139-149.
- Schmidt T., Schaller H.C. (1976). Evidence for a foot-inhibiting substance in hydra, *Cell Differ.*, **5**, 151-159.
- Silver J., Sidman R.L. (1980). A mechanism for guidance and topologic patterning of retinal ganglion cell axons, *J. Comp. Neurol.*, **189**, 101-111.
- Singer M. (1954). Induction of regeneration of the forelimb of the postmetamorphic frog by augmentation of the nerve supply, *J. Exp. Zool.*, **126**, 419-472.
- Singer M., Norlander R., Egar M. (1979). Axonal guidance during embryogenesis and regeneration in the spinal cord of the newt: The blueprint hypothesis of neuronal pathway patterning, *J. Comp. Neurol.*, **185**, 1-22.
- Singer M., Caston J.D. (1972). Neurotrophic dependence of macromolecular synthesis in the early limb regenerate of the newt, *Triturus*, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **28**, 1-11.
- Spemann H. (1938). *Embryonic Development and Induction*, Yale University Press, New Haven.
- Sperry R.W. (1951). Mechanisms of neural maturation. In: S.S. Stevens (ed.), *Handbook of Experimental Psychology*, Wiley, New York, pp. 236-280.
- Sperry R.W. (1965). Embryogenesis of behavioral nerve nets. In: R.L. DeHaan and H. Ursprung (eds.), *Organogenesis*, Holt, Rinehart and Winston, New York, pp. 161-186.
- Stocum D.L. (1986). Retinoids: Probes for understanding pattern regeneration in regenerating amphibian limbs. In: R.M. Gorczynski (ed.), *Receptors in Cellular Recognition and Developmental Processes*, Academic, New York, pp. 165-181.
- Stocum D.L., Fallon J.F. (1982). Control of pattern formation in urodele limb ontogeny: A review and a hypothesis, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **69**, 7-36.
- Strickland S., Mahadavi V. (1978). The induction of differentiation in teratocarcinoma stem cells by retinoic acid, *Cell*, **15**, 393-403.
- Summerbell D. (1974). A quantitative analysis of the effect of excision of the AER from the chick limb bud, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **32**, 651-660.
- Summerbell D. (1979). The zone of polarizing activity: Evidence for a role in abnormal chick limb morphogenesis, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **50**, 217-233.
- Summerbell D., Lewis J.H. (1975). Time, place and positional value in chick limb bud, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **33**, 621-643.
- Taghert P.H., Doe C.Q., Goodman C.S. (1984). Cell determination and regulation during development of neuroblasts and neurones in grasshopper embryo, *Nature*, **307**, 163-165.
- Takano J., Sugiyama T. (1983). Genetic analysis of developmental mechanisms in hydra. VIII. Head-activation and head-inhibition potentials of a slow-budding strain (L4), *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **78**, 141-168.
- Thaller C., Eichele G. (1987). Identification and spatial distribution of retinoids in the developing chick limb bud, *Nature*, **327**, 625-628.
- Thoms S.D., Stocum D.L. (1984). Retinoic acid-induced pattern duplication in regenerating urodele limbs, *Dev. Biol.*, **103**, 319-328.
- Tickle C. (1981). The number of polarizing region cells required to specify additional digits in the developing chick wing, *Nature*, **289**, 295-298.
- Tickle C., Alberts B., Wolpert L., Lee J. (1982). Local application of retinoic acid to the limb bud mimics the action of the polarizing region, *Nature*, **296**, 564-566.
- Tickle C., Lee J., Eichele G. (1985). A quantitative analysis of the effect of all-trans-retinoic acid on the pattern of chick wing development, *Dev. Biol.*, **109**, 82-95.
- Tickle C., Summerbell D., Wolpert L. (1975). Positional signaling and specification of digits in chick limb morphogenesis, *Nature*, **254**, 199-202.
- Tinbergen N. (1951). *The Study of Instinct*, Clarendon Press, Oxford.
- Tosney K.W., Landmesser L.T. (1985). Development of the major pathways for neurite outgrowth in the chick hindlimb, *Dev. Biol.*, **109**, 193-214.
- Trisler D. (1987). Molecular markers of cell position in avian retina are responsible for synapse formation, *Am. Zool.*, **27**, 189-206.
- Trisler D., Collins F. (1987). Corresponding spatial gradients of TOP molecules in the developing retina and optic tectum, *Science*, **237**, 1208-1210.
- Trisler D., Bekenstein J., Daniels M.P. (1986). Antibody to a molecular marker of cell position inhibits synapse formation in the retina, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 4194-4198.
- Trisler D., Schneider M.D., Nirenberg M. (1981). A topographic gradient of molecules in retina can be used to identify neuron position, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**, 2145-2149.
- Wakeford R.J. (1979). Cell contact and positional communication in hydra, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **54**, 171-183.
- Webster C. (1966). Studies on pattern regulation in hydra, II. Factors controlling hypostome formation, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **16**, 105-122.
- Webster G., Wolpert L. (1966). Studies of pattern regeneration in hydra, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **16**, 91-104.
- Weiss P. (1939). *Principles of Development*, Holt, Rinehart and Winston, New York.
- Weiss P.A. (1955). Nervous system. In: B.H. Willier, P.A. Weiss and V. Hamburger (eds.), *Analysis of Development*, Saunders, Philadelphia, pp. 346-402.
- Whitelaw V., Hollyday M. (1983). Position-dependent motor innervation of the chick hindlimb following serial and parallel duplications of limb segments, *J. Neurosci.*, **3**, 1216-1225.
- Wiesel T.N. (1982). Postnatal development of the visual cortex and the influence of the environment, *Nature*, **299**, 583-591.
- Wilby O.K., Webster G. (1970). Experimental studies on axial

- polarity in hydra, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **24**, 595–613.
- Wolbach S.B., Howe P.R. (1925). Tissue changes following deprivation of fat-soluble A vitamin, *J. Exp. Med.*, **42**, 753–777.
- Wolpert L. (1969). Positional information and the spatial pattern of cellular formation, *J. Theoret. Biol.*, **25**, 1–47.
- Wolpert L. (1971). Positional information and pattern formation, *Curr. Top. Dev. Biol.*, **6**, 183–224.
- Wolpert L. (1977). The Development of Pattern and Form in Animals, Carolina Biological, Burlington, NC.
- Wolpert L. (1978). Pattern formation in biological development, *Sci. Am.*, **239**(4), 154–164.
- Zipser B., McKay R. (1981). Monoclonal antibodies distinguish identifiable neurones in the leech, *Nature*, **289**, 549–554.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА К 3-МУ ИЗДАНИЮ

- Chevallier A., Kieny M., Mauger M., Sengel P. (1977). Limb-somite relationships: Origin of limb musculature, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **41**, 245–258.
- Christ W., Jacob H.J., Jacob M. (1977). Experimental analysis of the origin of wing musculature in avian embryos, *Anat. Embryol.*, **150**, 171–186.
- Dollé P., Izpisua-Belmonte J.-C., Falkenstein H., Renucci A., Duboule D. (1989). Coordinate expression of the murine *Hox-5* complex homeobox-containing genes during limb pattern formation, *Nature*, **342**, 767–772.
- Edwards R.H., Rutter W.J., Hanahan D. (1989). Directed expression of NGF to pancreatic β cells in transgenic mice leads to selective hyperinnervation of the islets, *Cell*, **58**, 161–170.
- Frenz D.A., Jaikaria N.S., Newman S.A. (1989). The mechanism of precartilaginous mesenchymal condensation: A major role for interaction of the cell surface with the amino-terminal heparin-binding domain of fibronectin, *Dev. Biol.*, **136**, 97–103.
- George-Weinstein M., Decker C., Horwitz A. (1988). Combinations of monoclonal antibodies distinguish mesenchyme, myogenic, and chondrogenic precursors of the developing chick embryo, *Dev. Biol.*, **125**, 34–50.
- Giguère V., Ong E.S., Evans R.M., Tabin C.J. (1989). Spatial and temporal expression of the retinoic acid receptor in the regenerating amphibian limb, *Nature*, **337**, 566–570.
- Harper S., Davies A.M. (1990). NGF mRNA expression in developing cutaneous epithelium related to innervation density, *Development*, **110**, 515–519.
- Hohn A., Leibrock J., Bailey K., Barde Y.-A. (1990). Identification and characterization of a novel member of the nerve growth factor/brain-derived neurotrophic factor family, *Nature*, **344**, 339–341.
- Korsching S., Thoenen H. (1983). Nerve growth factor in sympathetic ganglia and corresponding target organs of the rat: correlation with density of sympathetic innervation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 3513–3516.
- Levi-Montalcini R., Booker B. (1960). Destruction of the sympathetic ganglia in mammals by an antiserum to the nerve growth factor protein, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **46**, 384–390.
- Maden M., Ong D.E., Summerbell D., Chytil F., Hirst E.A. (1989). Cellular retinoic acid-binding protein and the role of retinoic acid in the development of the chick embryo, *Dev. Biol.*, **135**, 124–132.
- Maisonpierre P.C., Belluscio L., Squinto S., Ip N.Y., Furth M.E., Lindsay R.M., Yancopoulos G.D. (1990). Neurotrophin-3: A neurotrophic factor related to NGF and BDNF, *Science*, **247**, 1446–1451.
- Newman S.A. (1988). Lineage and pattern in the developing vertebrate limb, *Trends Genet.*, **4**, 329–332.
- Newman S.A., Frisch H.L. (1979). Dynamics of skeletal pattern formation in developing chick limb, *Science*, **205**, 662–668.
- Newman S.A., Frisch H.L., Percus J.K. (1988). The stationary state analysis of reaction-diffusion mechanisms for biological pattern formation, *J. Theoret. Biol.*, **134**, 183–197.
- Oster G.F., Shubin N., Murray J.D., Alberch P. (1988). Evolution and morphogenetic rules: The shape of the vertebrate limb in ontogeny and phylogeny, *Evolution*, **42**, 862–884.
- Pearson J., Johnson E.M. Jr., Brandeis L. (1983). Effects of antibodies to nerve growth factor on intrauterine development of derivatives of cranial neural crest and placode in the guinea pig, *Dev. Biol.*, **96**, 32–36.
- Prigogine I., Nicolis G. (1967). On symmetry-breaking instabilities in dissipative systems, *J. Chem. Phys.*, **46**, 3542–3550.
- Ragsdale C.W. Jr., Petkovich M., Gates P.B., Chambon P., Brookes J.P. (1989). Identification of a novel retinoic acid receptor in regenerative tissues of the newt, *Nature*, **341**, 654–657.
- Ruberte E., Dollé P., Krust A., Zelent A., Morriss-Kay G., Chambon P. (1990). Specific spatial and temporal distribution of retinoic acid receptor gamma transcripts during mouse embryogenesis, *Development*, **108**, 213–222.
- Solursh M. (1984). Ectoderm as a determinant of early tissue pattern in the limb bud, *Cell Diff.*, **15**, 17–24.
- Turing A.M. (1952). The chemical basis of morphogenesis, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B*, **237**, 37–72.
- Welsh B.J., Gomati J., Burgess A.E. (1983). Three-dimensional chemical waves in the Belousov-Zhabotinski reaction, *Nature*, **304**, 611–614.
- Winfree A.T. (1974). Rotating chemical reactions, *Sci. Am.*, **230**(6), 82–95.
- Wolpert L., Hornbruch A. (1987). Position signalling and the development of the humerus in the chick limb bud, *Development*, **100**, 333–338.

Глава 18

Генетика формирования пространственной организации у дрозофилы

Библиотека – беспредельна и незыблема. Если бы вечному страннику удалось преодолеть преграду времени в несколько столетий, он обнаружил бы те же самые книги, в том же самом беспорядке, повторение которого и создает порядок: Порядок как таковой. Эта мысль скрашивает мое одиночество.

ЖОРЖ ЛУИ БОРЖЕ (1962)

Беда с этими млекопитающими – среди них нет ни одного занятого мутанта.

У. БЕНДЕР, М. ПАЙФЕР (1987)

Введение

К началу двадцатого столетия генетика, эмбриология и эволюционная биология сформировались как три разные области знания (Mayr, 1982; Raff, Kaufman, 1983). До этого времени их считали единой дисциплиной, используя для ее названия термин *развитие*: например, теорию Дарвина рассматривали как «гипотезу развития». Но к 1926 г. эти науки имели свои журналы, руководства и свою терминологию. Ни генетика, ни эмбриология, ни эволюционное учение друг в друге не нуждались: генетика изучала передачу наследственных признаков из поколения в поколение, эмбриология – проявление этих признаков, а эволюционное учение – возникновение, отбор и закрепление их в ряду поколений.

В конце тридцатых годов были сделаны первые попытки соединить генетику, эмбриологию и эволюционное учение воедино (Goldschmidt, 1938; Just, 1939; Waddington, 1940), однако успехом эти попытки не увенчались. И только в последние годы техника рекомбинантных ДНК и моноклональных антител нивелировала границы этих трех наук. Генетика онто- и филогенетического формирования пространственной организации насекомых стала одной из наиболее значительных областей взаимопроникновения генетики, эмбриологии и эволюционной теории: именно здесь произошла их интеграция, предсказанная Гольдшмидтом и Уоддингтоном.

Успех изучения пространственной организации у зародыша оказался возможным благодаря ис-

пользованию наследственных изменений – мутаций. И здесь ученым неоценимую услугу оказала плодовая муха – дрозофила, поскольку из всех эукариот генетика именно этого организма была изучена наиболее полно. Анализ путей, посредством которых мутации оказывают влияние на пространственную организацию, а она в свою очередь определяет дифференцировку генетически маркированных тканей, стал ключом к пониманию механизмов морфогенеза.

Краткий обзор развития дрозофилы

Как уже обсуждалось в гл. 3, в ранних зародышах дрозофилы происходят быстрые деления ядер, в результате чего формируется синцитиальная бластодерма. Во время девятого цикла около 5 ядер мигрируют в цитоплазму заднего полюса яйца. Здесь они окружаются клеточными мембранами, становясь клетками, дающими начало гаметам взрослого насекомого. К десятому циклу большая часть оставшихся ядер достигает периферии яйца и претерпевает здесь четыре парасинхронных деления. После 13-го деления клеточные мембраны окружают каждое ядро, формируя таким образом клеточную бластодерму, состоящую из 6000 клеток (Turner, Mahowald, 1977; Foe, Alberts, 1983). С 14-го деления в ядрах бластодермальных клеток резко

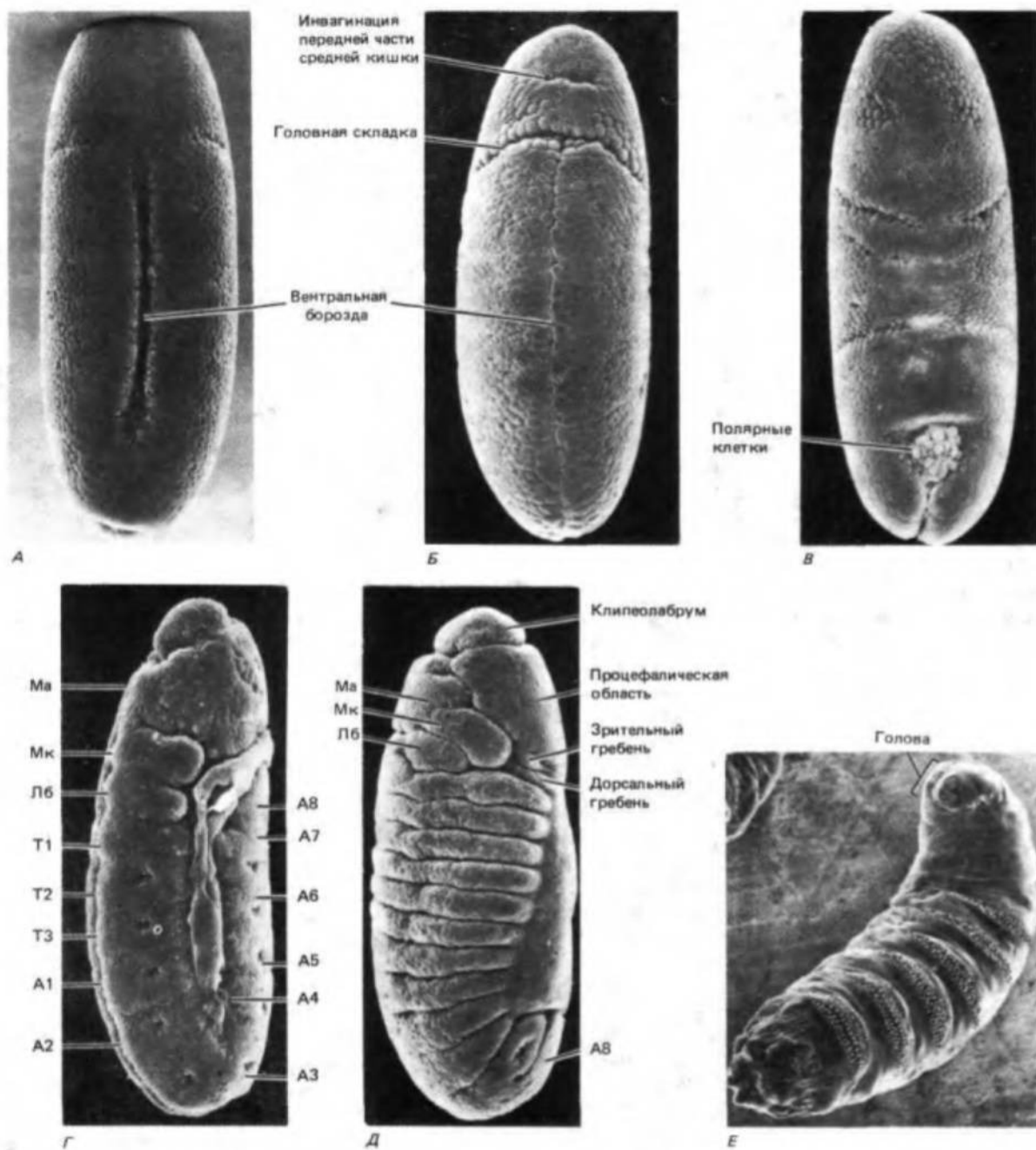


Рис. 18.1. Гастрюляция у дрозофилы. А. Формирование вентральной борозды в результате миграции клеток к средней линии. Б. Инвагинация вентральной борозды. В. Зародыш (несколько старше предыдущего) с дорсальной стороны. Видны мигрирующие внутрь полярные клетки и энтодерма. Г. Вид сбоку: удлинение зародышевой полоски. Формирующиеся сегменты обозначены следующим образом: Ма – мандибулярный (нижнечелюстной); Мк – максиллярный (верхнечелюстной); Лб – лабиальный (нижнегубной); Т1 – Т3 – торакальные (грудные); А1 – А8 – абдоминальные (брюшные). Д. Сокращение зародышевой полоски. Отмечены клипеолабрум (наличник верхней губы), процефалическая область (передняя часть головы), зрительный и дорсальный гребень. Е. Вылупившаяся личинка первого возраста. (Фотографии с любезного разрешения F. R. Turner.)

возрастает уровень транскрипционной активности, весьма низкий до этой стадии. Клетки становятся подвижными, и начинается следующая стадия развития – гастрюляция (Edgar, Schubiger, 1986). Описанные изменения происходят в течение первых двух-трех часов развития.

Результатом гастрюляции является образование трех зародышевых листков: мезодермы, энтодермы и эктодермы (рис. 18.1). Около тысячи клеток вдоль вентральной срединной линии, составляющие проспективную мезодерму, формируют **вентральную борозду**, края которой сходятся, и она замыкается в трубку. Эта трубка уплощается и образует под вентральной эктодермой мезодермальный зародышевый листок. Инвагинирующие массы клеток в начале и конце вентральной борозды дают начало энтодерме насекомого. Гастрюляционные перемещения клеток энтодермы увлекают за собой полярные клетки и они попадают внутрь зародыша. В это время в передней части зародыша образуется **головная (нефалическая) складка**, а на дорсальной стороне **передние и задние поперечные складки**.

Оставшиеся на поверхности зародыша клетки, мигрируя в тангентальном направлении, подтягиваются к вентральной срединной линии. Образовавшееся скопление клеток носит название **зародышевой полоски**. Эта полоска начинает перемещаться к заднему полюсу, огибает его и продолжает движение на дорсальной стороне в направлении переднего полюса. В результате презумптивные структуры задних отделов личинки на дорсальной стороне зародыша располагаются в непосредственной близости от проспективных головных структур. На этой стадии развития у зародышей дрозофилы начинают формироваться сегменты, и происходит топографическое разделение эктодермального и мезодермального зародышевых листков. Вскоре зародышевая полоска начинает сокращаться и это приводит к восстановлению ее исходной топологии. Именно на этой стадии онтогенеза дрозофилы из поверхностной эктодермы сегрегируют клетки, предшественники имажинальных дисков, а из продольного клеточного тяжа вдоль вентральной срединной линии – нейробласты, родоначальники клеток нервной системы (см. гл. 9). В отличие от нервной системы позвоночных нервная трубка насекомых формируется в вентральной области зародыша, она возникает из нейробластов, дифференцирующихся в вентральной нейрогенной эктодерме каждого сегмента и в процефалической нейрогенной эктодерме головы.

Возникновение переднезадней полярности

Яйцо, зародыш, личинка и имаго дрозофилы характеризуются переднезадней полярностью. Ооцит развивается так, что один его конец (будущий передний) непосредственно соединяется с цитоплазмой фолликулярных питающих клеток, которые снабжают яйцо белками, рибосомами и мРНК. На противоположном конце яйца накапливается полярная плазма, дающая начало первичным половым клеткам взрослого насекомого (гл. 7). У зародыша, личинки и взрослого насекомого можно легко различить головной отдел и хвостовой конец, между которыми располагаются повторяющиеся единицы – сегменты. Три сегмента образуют грудь, а оставшиеся восемь – брюшко. Каждый сегмент взрослой мухи характеризуется своими особыми чертами. Первый грудной сегмент, например, несет только ноги; второй грудной сегмент имеет и ноги, и крылья. Третий грудной сегмент несет ноги и жужжальца (балансёры). Грудные и брюшные сегменты различаются также по строению кутикулы.

Каким образом полярность на уровне яйца дрозофилы переходит в полярность на уровне взрослого организма с его повторяющимися, но тем не менее индивидуализированными сегментами? За последние полтора десятилетия были собраны данные, на основе которых была предложена модель возникновения такой полярности (рис. 18.2). Полагают, что, во-первых, материнская мРНК, депонируемая в разных областях яйца, кодирует регулирующие транскрипцию и трансляцию белки, которые диффундируют на стадии синцитиальной бластодермы и активируют (либо репрессируют) определенные гены зиготы. Во-вторых, гены зиготы, регулируемые факторами материнского происхождения, экспрессируются в широких (около трех сегментов) доменах, которые перекрываются друг с другом. Эти гены названы **gap-генами** (потому что у мутантов по ним отсутствует несколько сегментов). Именно эти гены первыми активируются в развивающемся зародыше. В-третьих, разные концентрации белковых продуктов генов gap-группы активируют гены группы pair-rule, которые транскрибируются в клетках презумптивных зачатков каждого второго сегмента. Транскрипционный паттерн каждого из генов группы pair-rule характеризуется тигровым рисунком и состоит из 7 вертикальных полос клеток по всей длине зародыша. Продукты транскрипции генов группы pair-rule активируют транскрипцию генов группы segment-polarity. мРНК и соответствующие ей белки генов группы segment-polarity формируют 14 полос, которые разделяют зародыш на сегменты. В это же время продукты генов групп gap, pair-rule и segment-polarity взаимо-

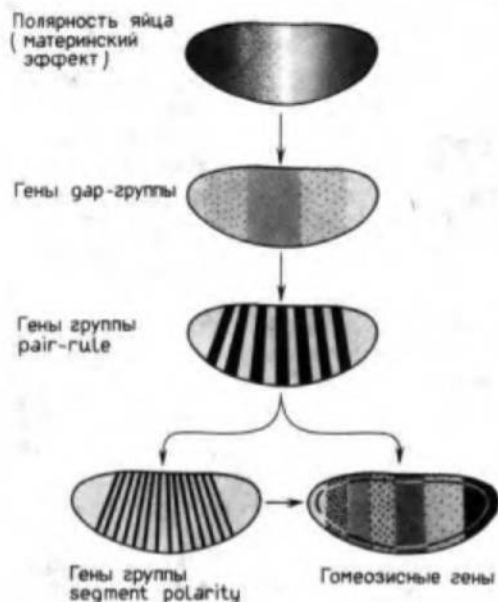


Рис. 18.2. Общая схема формирования сегментарной структуры у дрозофилы. Такая структура формируется в результате активности генов с материнским эффектом, продукты которых образуют градиенты и области с морфогенетически активными белками. Эти морфогенетические детерминанты активируют гены гар-группы, разделяющие зародыш на широкие домены. Гены гар-группы включают гены группы pair-rule, обуславливающие подразделение зародыша на презумптивные зачатки шириной по два сегмента. Затем гены группы segment-polarity подразделяют зародыш на сегментарные единицы по всей продольной оси. Комбинации активности этих генов регулируют работу гомеозисных генов, определяющих морфологическую специфику каждого сегмента.

действуют друг с другом и активируют гомеозисные (homeotic) гены.

Гены с материнским эффектом

Эмбриологические данные, касающиеся регуляции становления полярности цитоплазмы яйца

Результаты классических эмбриологических экспериментов свидетельствуют о существовании в яйцах насекомых по крайней мере двух **организующих центров: переднего и заднего**. Сандер (Sander, 1975) постулировал, что именно эти области яйца формируют два градиента: в передней и задней частях зародыша. Каждый из градиентов определяет формирование специфических структур, а их взаимодействие обуславливает морфогенез центральных сегментов зародыша. Создавая свою модель, Сандер основывался на экспериментах по наложению лигатуры на зародыши в различные периоды эмбриогенеза и по трансплантации поляр-

ной плазмы из одной части яйца в другую (рис. 18.3). Во-первых, если он пересаживал цитоплазму из области заднего полюса в центральную часть яйца, то в передней части развивался миниатюрный зародыш, имеющий полный набор сегментов, а в задней части яйца формировались лишь отдельные сегменты. Во-вторых, наложение лигатуры, разделяющей переднюю и заднюю части яйца, на ранних стадиях онтогенеза приводило к развитию в передней части передних сегментов, а в задней части – задних сегментов, причем ни один из изолятов не содержал центральных сегментов, характерных для их нормального набора. Чем позже накладывалась лигатура, тем больше развивалось центральных сегментов. На основе полученных данных Сандер предположил, что во время дробления в зародыше существуют два градиента, которые распространяются от обоих полюсов и, взаимодействуя друг с другом, создают позиционную информацию, определяющую идентичность каждого сегмента.

То, что мРНК ответственна за генерирование этого градиента, было показано в серии эксперимен-

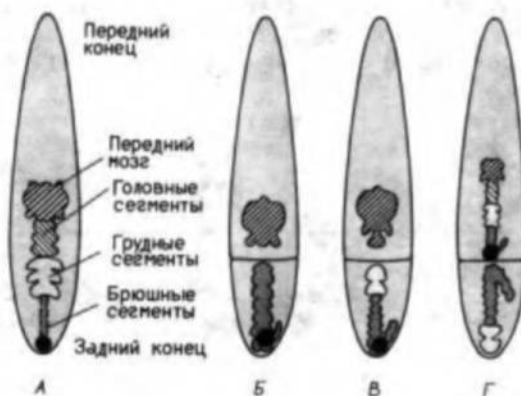


Рис. 18.3. Эксперименты Сандера по наложению лигатуры на яйца кузнечика *Euscelis*. А. Нормальный зародыш с вентральной стороны. Черный шар на заднем полюсе яйца – бактериальный симбионт насекомого, маркирующий полярную плазму. Б. После наложения лигатуры на ранних стадиях развития формируются неполные зародыши, у которых отсутствуют головные и грудные сегменты. В. При наложении лигатуры на более поздних стадиях онтогенеза (на стадии бластомеры) часть «пропущенных» сегментов развивается, а другая часть (центральные сегменты) не развивается. Г. При пересадке цитоплазмы заднего полюса яйца в зародыш с наложенной на стадии бластомеры лигатурой в переднем изоляте формируется миниатюрный зародыш с полным набором сегментов, а в заднем изоляте – «неполный» зародыш с инвертированной полярностью. Полученные результаты можно объяснить с помощью градиентной модели, согласно которой в передней и задней областях зародыша возникают градиенты, разрешающие формирование одних структур и запрещающие формирование других. (По Sander, 1960; French, 1988.)



Рис. 18.4. Нормальный и облученный зародыши *Smittia*. Нормальный (вверху) зародыш имеет голову (слева) и брюшные сегменты (справа). У облученного УФ-светом зародыша отсутствует голова, однако формируется второе брюшко с передней стороны. (По Kalthoff, 1969; фотографии с любезного разрешения К. Kalthoff.)

тов (Kalthoff, Sander, 1968). Облучение переднего полюса яйца комара *Smittia* УФ-светом с длиной волны 265 и 285 нм, который, как известно, инактивирует РНК, приводило к формированию зародышей без головы и груди. Вместо этого у них развивалось второе брюшко, являющееся зеркальным отражением уже имеющегося (рис. 18.4). Дополнительные данные, свидетельствующие о важной роли РНК в спецификации (детализации) развития передних отделов зародыша мухи, были получены Кэнд-

лер-Сингером и Колтхофом (Kandler-Singer, Kalthoff, 1976). Эти исследователи погружали яйца *Smittia* в растворы, содержащие различные ферменты, и затем брали пункцию из интересующих их областей яйца. Зародыши с двойным брюшком развивались из яиц, в передний полюс которых могла проникать рибонуклеаза (фермент, расщепляющий РНК). Другие ферменты не вызывали подобного эффекта, как и не вызывало его проникновение рибонуклеазы в другие области яйца.

Передний организующий центр: градиент белка bicoid

В 1988 г. гипотеза градиентного распределения морфогена была проверена генетическим методом анализа эмбриогенеза дрозофилы. Если действительно существуют градиенты морфогенов, то какова природа этих морфогенов, и как изменяется их концентрация в цитоплазме? Какие гены ответственны за формирование этих градиентов? Действуют ли эти вещества как активаторы или как ингибиторы определенных генов в тех областях, где они концентрируются? Кристина Нюсслейн-Вольхард с коллегами обнаружила, что одни гены кодируют градиент морфогенов для структур передней части зародыша, другие гены отвечают за синтез морфо-



Рис. 18.5. Три независимых пути генетической регуляции становления сегментарной структуры у дрозофилы. В каждом случае первоначальная полярность устанавливается во время оогенеза, а после оплодотворения запасенные морфогены определяют формирование сегментарной структуры посредством активации или репрессии специфических генов зиготы в различных областях. 1 — акрон, 2 — голова, 3 — грудь, 4 — брюшко, 5 — тельсон. (По Anderson, 1989.)

Таблица 18.1. Гены с материнским эффектом, контролирующие переднезаднюю полярность зародыша

Ген	Фенотип	Предполагаемая функция и структура
ПЕРЕДНЯЯ ГРУППА		
<i>bicoid (bcd)</i>	Отсутствует голова и грудь, на их месте – инвертированный тельсон	Градиент переднего детерминанта; содержит гомеодомен
<i>exuperantia (exu)</i>	Отсутствуют передние головные структуры	Заякоривает мРНК гена <i>bicoid</i>
<i>swallow (swa)</i>	Отсутствуют передние головные структуры	Заякоривает мРНК гена <i>bicoid</i>
ЗАДНЯЯ ГРУППА		
<i>tudor (tud)</i>	Отсутствуют брюшко и полярные клетки	Задний морфоген Транспорт заднего морфогена вперед Возможный сайт прикрепления для белка <i>nanos</i>
<i>oskar (osk)</i>	Отсутствуют брюшко и полярные клетки	
<i>vasa (vas)</i>	Отсутствуют брюшко и полярные клетки; нарушен оогенез	
<i>valois (val)</i>	Отсутствуют брюшко и полярные клетки; нарушено формирование клеток	
<i>staufer (stau)</i>	Отсутствуют брюшко и полярные клетки; дефекты головы	
<i>nanos (nos)</i>	Отсутствует брюшко	Задний морфоген Транспорт заднего морфогена вперед Возможный сайт прикрепления для белка <i>nanos</i>
<i>pumilio (pum)</i>	Отсутствует брюшко	
<i>Bicaudal (Bic)</i>	Двойное брюшко	
ТЕРМИНАЛЬНАЯ ГРУППА		
<i>torso (tor)</i>	Отсутствуют терминальные структуры	Возможный морфоген для терминальных структур
<i>trunk (trk)</i>	Отсутствуют терминальные структуры	
<i>torsolike (tsl)</i>	Отсутствуют терминальные структуры	
<i>ts (1) Nasrat [fs (1) N]</i>	Отсутствуют терминальные структуры, уменьшение размеров яиц	
<i>fs (1) pole hole [fs (1) ph]</i>	Отсутствуют терминальные структуры, уменьшение размеров яиц	

По Andersson, 1989.

генов, обуславливающих образование структур брюшной области зародыша, и третья группа генов кодирует биосинтез морфогенов, контролирующих возникновение структур терминальных областей зародыша (рис. 18.5; табл. 18.1).

Если исходить из градиентной гипотезы, то наиболее интересным у дрозофилы оказался мутантный фенотип *bicoid*. У мутантов *bicoid* вместо передних структур (акрона, головы и груди), брюшных структур и тельсона формируется дополнительный тельсон в передней части зародыша, брюшко и тельсон (рис. 18.6). По-видимому, у мутантных зародышей отсутствует морфоген, необходимый для формиро-

вания передних структур. Кроме того, можно предположить, что вещества, которые отсутствуют у этих мутантов, необходимы для включения генов, контролирующих формирование передних структур, и инактивации генов, контролирующих образование тельсона.

Полученные несколько лет тому назад данные укрепили точку зрения о том, что продукт нормального аллеля гена *bicoid (bcd)* является морфогеном, контролирующим формирование передних структур зародыша. В пользу этого свидетельствует, во-первых, то, что ген *bicoid* проявляет материнский эффект. Ген *bicoid* материнского генома транскрибиру-

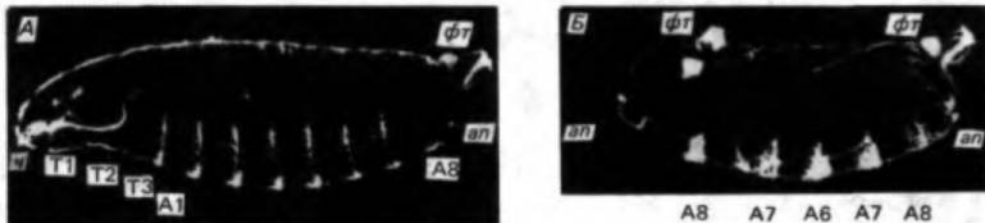


Рис. 18.6. Фенотип зародышей, развившихся из яиц, отложенных самками, мутантными по сильным аллелям гена *bicoid*. А. Кутикула у зародыша дикого типа. Б. Мутант *bicoid*. Голова и грудь замещены набором структур тельсона. Структуры тельсона: *фг* – фильтрующее тело, *ап* – анальные пластинки. T1–T3 – грудные (торакальные) сегменты, A1–A8 – брюшные (абдоминальные) сегменты. Головные структуры: *ч* – челюсти. (По Driever et al., 1990; фотографии с любезного разрешения W. Driever.)

ется в клетках овариолы яичника (Frigerio et al., 1986; Berleth et al., 1988). Введение очищенной bicoid-мРНК или цитоплазмы переднего отдела, полученной из яиц дикого типа, в передний отдел мутантных по гену *bicoid* зародышей, восстанавливает нормальный фенотип мутанта. Более того, в какую бы область зародыша ни вводили цитоплазму переднего полюса, в этой области образовывались головные структуры.

Матричная РНК гена *bicoid* локализована исключительно в передней части ооцита (рис. 18.7, А). Это не согласуется с предполагаемой ролью продукта гена *bicoid* как морфогена, онтогенетическое влияние которого распространяется далее, чем до середины яйца. Однако было установлено (Driever, Nüsslein-Volhard, 1988a), что при трансляции мРНК во время ранних делений дробления белковый продукт гена *bicoid* формирует градиент с наибольшей концентрацией в передней части яйца и фоновой концентрацией в его задней трети. Кроме того, этот белок вскоре связывается с ядрами синцития передней части зародыша (рис. 18.7, Б).

Дополнительные данные о том, что белковый продукт гена *bicoid* является морфогеном передних структур, были получены в экспериментах по изменению «крутизны» градиента. Два гена, *exuperantia* и *swallow* отвечают за стабилизацию морфогена в переднем полюсе яйца. При отсутствии продуктов этих генов градиент белка *bicoid* распространяется ближе к заднему полюсу, т.е. становится более пологим (Driever, Nüsslein-Volhard, 1988). Фенотип этих мутантов напоминает фенотип мутантов *bicoid*. У мутантных зародышей отсутствуют самые передние структуры, но формируются удлинённые челюсти и грудные структуры. Таким образом, изменение градиента белка гена *bicoid* приводит к нарушению онтогенетической судьбы эмбриональных зачатков.

Далее возникает следующий вопрос: каким образом градиент белка *bicoid* может контролировать становление переднезадней оси. Одним из ключей к решению этого вопроса явился тот факт, что белок *bicoid* обнаружен в ядрах и что он содержит гомеодомен. Следовательно, белок гена *bicoid* может связываться с ДНК и регулировать таким образом экспрессию генов. Самыми ранними генами, активирующимися в зиготе, являются гены *gap*-группы. У мутантов по одному из них, гену *hunchback* (*hb*), отсутствуют ротовые части и структуры груди. Кроме того, ген *hunchback* активируется в передней половине зародыша там же, где обнаружен продукт гена *bicoid*. В конце восьмидесятых годов в двух независимых друг от друга лабораториях установлено, что белок гена *bicoid* связывается с геном *hunchback* и таким образом активирует его экспрессию (Driever, Nüsslein-Volhard, 1989; Struhl et al.,

1989). Полагают, что ген *hunchback* репрессирует гены, активные в брюшных сегментах, благодаря чему в областях его активности, совпадающих с наличием белка гена *bicoid*, формируются головные и грудные структуры. Использование метода футпринтинга ДНК позволило обнаружить присоединение белка гена *bicoid* к пяти сайтам, расположенным выше промотора гена *hunchback*. Все сайты присоединения имели общую последовательность

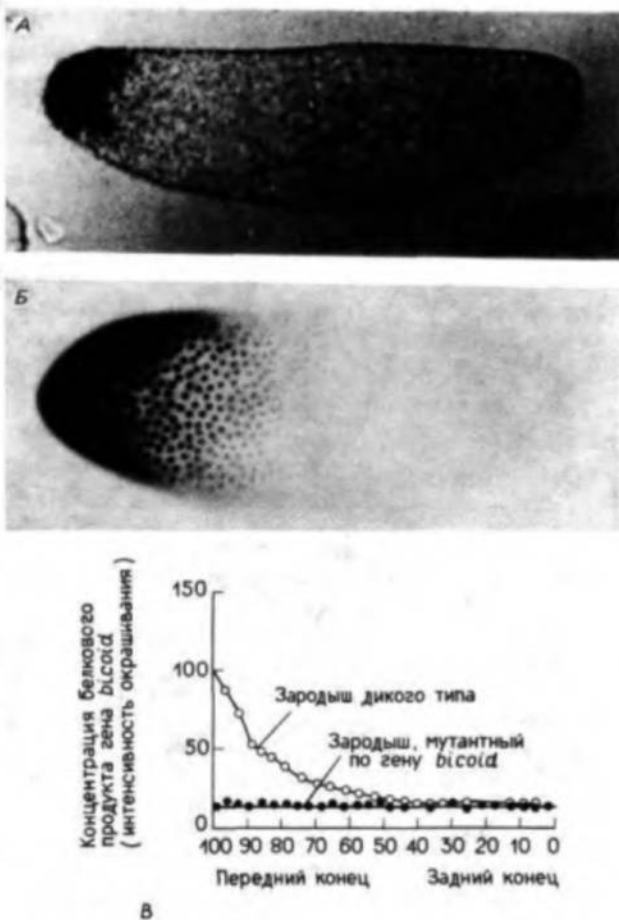
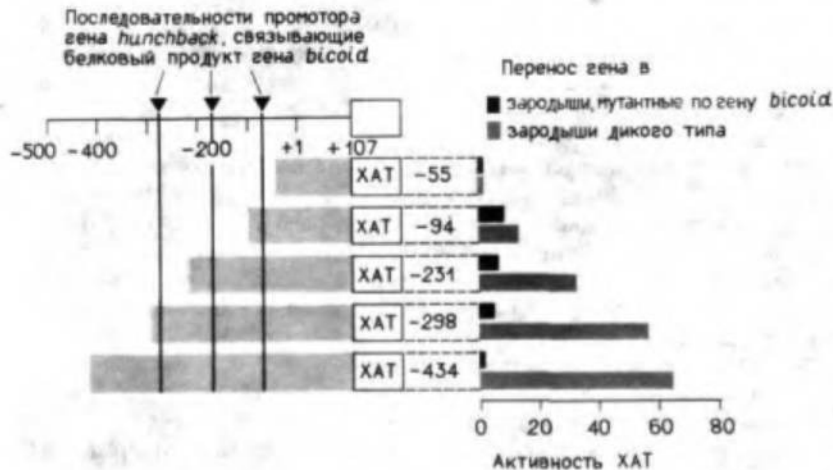


Рис. 18.7. Градиент белка гена *bicoid* в раннем зародыше дрозофилы. А. Локализация *bicoid*-мРНК в переднем конце зародыша. Б. Градиент белкового продукта гена *bicoid* сразу после оплодотворения. Обратите внимание на то, что наибольшая концентрация белка, регистрируемая в передней области зародыша, постепенно убывает в направлении к заднему концу яйца. Отметьте также, что белок гена *bicoid* сконцентрирован в ядрах синцития. В. Денситограмма градиента белкового продукта гена *bicoid*. Верхняя кривая описывает градиент белка гена *bicoid* в нормальных зародышах. Нижняя кривая описывает распределение белка гена *bicoid* в зародышах, развивающихся из яиц, отложенных самками, мутантными по этому гену. (А—по Kaufman et al., 1990; Б, В—по Driever, Nüsslein-Volhard, 1988a.)



5'-ТЦТААТЦЦ-3'. Однако связывание еще не означает активации. Активация этого гена белком гена *bicoid* была показана посредством введения в ранние зародыши дрозофилы генетической конструкции, содержащей промотор гена *hunchback* и маркерный ген хлорамфеникол-ацетилтрансферазы (ген *CAT*). Во всех экспериментах для активации гена *CAT* был необходим белок гена *bicoid*. При введении конструкции в мутантные по гену *bicoid* зародыши ген *CAT* не активировался (рис. 18.8). Было также показано, что в присутствии одной из пяти *bicoid*-связывающих последовательностей ген *CAT* активируется частично, а полная активация гена *CAT* (и, вероятно, также гена *hunchback*) имеет место при наличии трех из пяти последовательностей. Таким образом, функция градиента гена *bicoid*, вероятно, состоит в активации транскрипции гена *hunchback* в передней части зародыша.

Драйвер с коллегами предположили, что продуктом гена *bicoid* активируется не только ген *hunchback*, но и другие гены, контролирующие становление пространственной организации передней части зародыша. Об этом свидетельствуют, во-первых, делеции гена *hunchback*, из которых только некоторые вызывают нарушения морфогенеза у мутантов *bicoid*. Во-вторых, как уже было отмечено в экспериментах с использованием генов *exuperantia* и *swallow*, для формирования груди (т.е. экспрессии гена *hunchback*) достаточно средних концентраций белка *bicoid*, тогда как для образования головных структур требуется более высокие концентрации морфогена. Драйвер и др. (Driever et al., 1989) высказали предположение, что промоторы генов гар-группы, экспрессирующихся в головных структурах, должны иметь низкое сродство к белку гена *bicoid*, и для их активации необходима чрезвычайно высокая концентрация белка-активатора, а такая концентрация возможна только в области переднего полюса зародыша.

Рис. 18.8. Влияние белка гена *bicoid* на активацию гена *hunchback*. Генноинженерные конструкции, содержащие различные участки промотора гена *hunchback*, соединенные с маркерным геном хлорамфеникол-ацетилтрансферазы (ген *CAT*), были введены в зародыши дикого типа и зародыши, развивающихся из яиц, отложенных самками, мутантными по гену *bicoid*. Активность гена *CAT* в нормальных зародышах оказалась прямо пропорциональной количеству *bicoid*-связывающих последовательностей в промоторной области. У зародышей, у которых белок гена *bicoid* отсутствовал, промоторы разных конструкций не активировали транскрипцию. (По Driever, Nüsslein-Volhard, 1989.) (На рис. ген *CAT* обозначен как ХАТ.)

дыша. Позиционная судьба любой клетки определяется как уровнем концентрации морфогена (продукта гена *bicoid*), так и активностью тех генов, которые могут связывать морфоген, если он имеется.

Задний организующий центр: активация и транспорт продукта гена *nanos*

Задний организующий центр формируется благодаря экспрессии семи генов с материнским эффектом, отсутствие которых у матери приводит к отсутствию брюшка у зародышей (Schüpbach, Wieschaus, 1986; Lehmann, Nüsslein-Volhard, 1986). Задний организующий центр имеет две особенности, отличающие его от переднего центра. Во-первых, его поражение нарушает формирование брюшной области зародыша, но при этом не происходит замещения этой области другими структурами. Иными словами, область грудных структур у мутантов не распространяется в область брюшных сегментов, т.е. клетки задних отделов у мутантов оказываются неспособными формировать структуры брюшка. Во-вторых, результаты экспериментов по пересадке цитоплазмы показали, что задний организующий центр локализован не в области самого брюшка (т.е. не в той области, которая соответствует дефекту). Вероятнее, что он локализован в области заднего полюса яйца. Формирование абдоминальных сегментов у мутантных зародышей может быть восстановлено инъекцией цитоплазмы яиц дикого типа, правда, только в том случае, если эту цитоплазму инъецируют в область брюшка дефектных яиц. Однако цитоплазма дикого типа должна быть взята из области заднего полюса, но не из брюшной части зародыша. Таким образом, некоторые продукты, синтезируемые в области заднего полюса, транспортируются вперед, в область брюшных сегментов зародыша.

Распространено мнение, что для активации нормального аллеля гена *nanos* необходимо пять генов с материнским эффектом *nanos* (рис. 18.5). Продукт гена *nanos* будет регулировать экспрессию генов в брюшной области. Если при формировании передней части зародыша происходит активация гена (продукт гена *bicoid* активирует ген *hunchback*), то в формировании брюшка дробозиды участвует система, в которой должны быть ингибированы ингибиторы. Было показано (Tautz, 1988), что при формировании нормального брюшка белковый продукт гена *nanos* подавляет трансляцию гена *hunchback*. Отсутствие продукта гена *nanos* приводит к появлению продукта гена *hunchback*, который, по-видимому, ингибирует специфические для брюшка гены гар-группы, такие, как *knirps* и *Krüppel* (Hülskamp et al., 1989; Struhl, 1989; Irish et al., 1989). Следовательно, представляется вероятным, что ген *hunchback* играет решающую роль в регуляции обоих организующих центров, о существовании которых у насекомых было известно давно. Присутствие белка гена *bicoid* активирует транскрипцию гена *hunchback* в передней (но не в задней) части зародыша. Этот белок исключает гены гар-группы, специфические для брюшка, например ген *knirps*, и активирует наборы генов, специфических для головы и груди. Продукт гена *nanos* инактивирует синтез любого продукта гена *hunchback* в задней части зародыша и поэтому разрешает в данном регионе яйца экспрессию генов, специфических для морфогенеза брюшка (рис. 18.9). Результаты изучения экспрессии генов *nanos* и *bicoid* позволяют объяснить, почему разрушение мРНК гена *bicoid* (УФ-светом или

РНКазой) приводит к формированию второго брюшка и почему наложение лигатуры препятствует морфогенезу центральных сегментов зародыша дробозиды.

Однако продукт гена *nanos* каким-то образом должен быть доставлен из заднего полюса в область брюшных сегментов. Это, по-видимому, является функцией продукта гена *pumilio* (Lehmann, Nüsslein-Volhard, 1987). Если полярную плазму одного мутанта *pumilio* пересадить в брюшную область другого мутанта *pumilio*, то у зародыша-хозяина восстанавливаются брюшные сегменты. Кроме того, если удалить несколько сегментов между задним полюсом и областью брюшка, то сегментация брюшка у мутантов *pumilio* восстанавливается (за счет уменьшения расстояния между задним организующим центром и брюшком).

Когда скоро продукт гена *nanos* перемещается из заднего организующего центра, возникает вопрос о его локализации в цитозоле яйца. Существуют данные о том, что ген *BicaudalD* кодирует места связывания морфогена с цитоскелетом. Мутанты *BicaudalD* аккумулируют белок гена *nanos* на обоих полюсах, что приводит к его активности в переднем и заднем концах зародыша и обуславливает формирование зеркально симметричных абдоменов (рис. 18.10).

Группа генов, контролирующая формирование терминальных структур

В том случае, если оба организующих центра окажутся нефункциональными, в зародыше тем не

ПЕРЕДНЯЯ ЧАСТЬ
ЗАРОДЫША

ЗАДНЯЯ ЧАСТЬ
ЗАРОДЫША

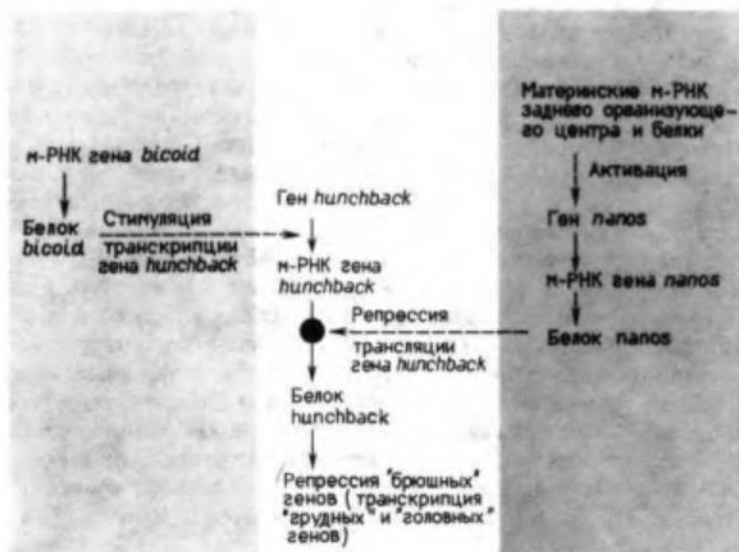


Рис. 18.9. Схема активации белковых продуктов генов *bicoid* и *nanos* при установлении переднезадней полярности зародыша. В передней части зародыша белок гена *bicoid* активирует транскрипцию гена *hunchback*, а белок гена *nanos* не запрещает трансляцию этой информации. В задней части зародыша белок гена *nanos* подавляет трансляцию гена *hunchback* и тем самым допускает экспрессию генов, специфических для брюшной области.

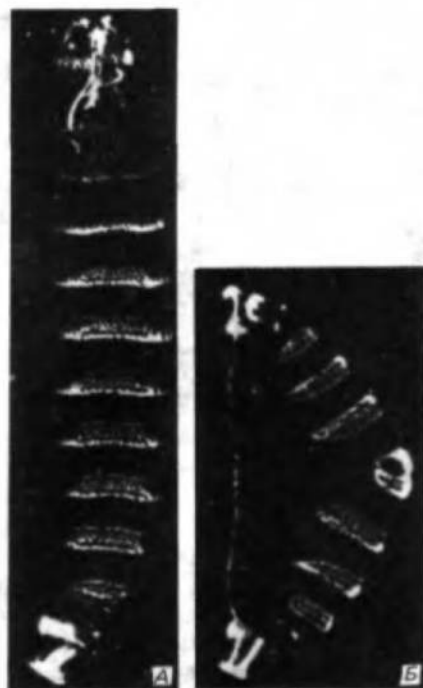


Рис. 18.10. Возможная функция гена *BicaudalD* состоит в локализации продукта гена *nanos*. А. Темнопольное изображение брюшной части нормального зародыша. Б. У мутантного по гену *BicaudalD* зародыша голова, грудь и передние брюшные сегменты замещены зеркально расположенными задними брюшными сегментами и тельсоном. (По Wharton, Struhl, 1989.)

менее будут формироваться передние и задние структуры (Nüsslein-Volhard et al., 1987). Самки, являющиеся двойными мутантами по генам, которые отвечают за биосинтез морфогенов передних и задних структур, дают в потомстве зародышей с двумя тельсонами, по одному на каждом полюсе. Таким образом, существует третья батарея генов с материнским эффектом, контролирующая становление продольной полярности зародыша. Мутации по данной группе генов (генов терминальных структур) нарушают формирование несегментированных придатков зародыша: акрона в передней части зародыша и тельсона в задней. Следовательно, эти гены определяют границы между сегментированными и несегментированными частями тела. При отсутствии продуктов этих генов сегментация распространяется на несегментированные придатки (Degelmann et al., 1986; Klingler et al., 1988).

Наиболее важным геном этой группы, по-видимому, является ген *torso* (рис. 18.5). При отсутствии продукта гена *torso* ни акрон, ни тельсон не формируются, и зародыш оказывается полностью сегментированным. Напротив, у доминантных мутантов по этому гену вся передняя половина зародыша

превращается в акрон, а задняя – в тельсон. Мутантные по гену *torso* зародыши восстанавливают нормальную структуру при инъекции цитоплазмы нормальных яиц в передний и задний полюсы яйца. Инъекция в середину яйца оказывается неэффективной. Восстанавливающей активностью обладает цитоплазма практически любой области нормальных яиц; это позволяет предположить, что продукт гена *torso* синтезируется во всем зародыше, но активен он только на полюсах. Удалось показать, что белковый продукт гена *torso* активируется фолликулярными клетками в обоих полюсах зародыша (Stevens et al., 1990). Фенотип мутантов по гену *torsoless* практически идентичен фенотипу мутантов по гену *torso*, однако этот ген экспрессируется в фолликулярных клетках, окружающих созревающий ооцит. С помощью соматических мутаций, приводящих к появлению на обоих полюсах яйцевой камеры мутантных по гену *torsoless* фолликулярных клеток, окруженных клетками дикого типа, удалось показать, что фенотип развившегося из данного яйца зародыша сходен с фенотипом *torso* (Stevens et al., 1990).

Таким образом, становление продольной полярности зародыша определяется активностью трех групп генов: генов переднего организующего центра, генов заднего организующего центра и генов терминальных структур. Передний организующий центр локализован в переднем конце яйца и реализуется благодаря градиенту белка гена *bicoid*, который активирует гены передних структур из гар-группы и подавляет гены задних структур. Задний организующий центр локализован в области полярной плазмы и действует посредством продукта гена *nanos*, который транспортируется в область брюшных структур. Здесь этот продукт ингибирует ингибитор генов, контролирующих образование брюшных структур. Морфологические границы терминальных структур (акрона и тельсона) определяются геном *torso*, продукт которого активен на обоих полюсах зародыша. Этот белок, по-видимому, взаимодействует с геном *tailless* и геном гар-группы *huckebein*, создавая таким образом условия для экспрессии акрон- и тельсонспецифических генов.

Компартментализация в процессе развития насекомых

Зародыш дрозофилы состоит из нескольких компартментов, существование которых удалось обнаружить с помощью генетической маркировки клеток. Такая маркировка позволяет отличить мутантную клетку от соседних клеток дикого типа и, таким образом, проследить, в каких частях взрослого насекомого локализуются ее потомки. У зародышей дрозофилы мутации можно индуцировать облуче-

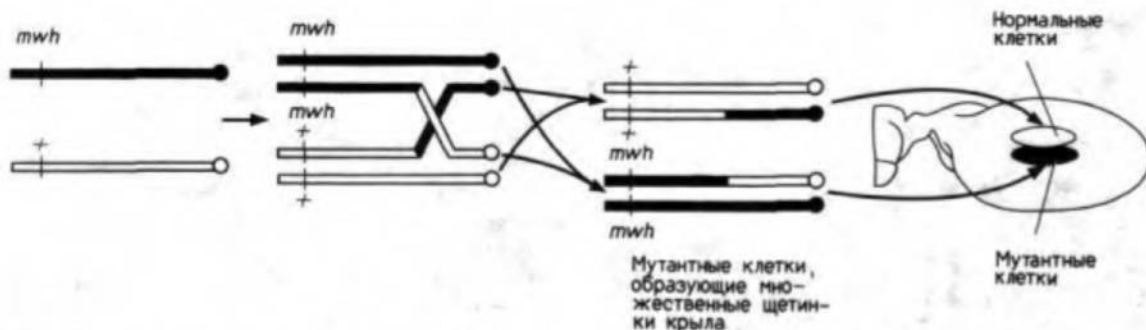


Рис. 18.11. Получение генетически маркированного клона клеток посредством кроссинговера. Гетерозиготы по рецессивной мутации *multiple wing hairs* (mwh) у дрозофилы имеют нормальные щетинки. Индуцированный облучением кроссинговер приводит к образованию двух генетически маркированных клеток: дикого ($+/+$) и мутантного (mwh/mwh) фенотипов. Поскольку спаривание гомологичных хромосом в соматических клетках в отличие от половых происходит довольно редко, митотическая рекомбинация также явление редкое. Ввиду того, что клетки дикого типа ($+/+$) фенотипически неотличимы от гетерозиготных клеток ($mwh/+$), клон клеток мутантного фенотипа легко отличить от них по характерному строению щетинок.

нием. В результате в митотических хромосомах возникают рекомбинации, и клетки, в которых произошли такие рекомбинации, можно легко выявить. Один из примеров приведен на рис. 18.11, здесь муха дикого типа, гетерозиготная по гену множественных щетинок крыла, имеет генотип $mwh/+$. Если рекомбинационное событие произойдет в клетке крылового имагинального диска особи, гетерозиготной по гену mwh , то рекомбинантные потомки клетки будут иметь гомозиготную генетическую структуру mwh/mwh (множественные крыловые щетинки) и $+/+$ (дикий тип). В результате пролиферации мутантная клетка формирует на крыле пятно мутантного фенотипа *multiple wing hairs*. Его величина зависит от количества клеточных поколений мутантной клетки с момента ее возникновения до окончания пролиферативной активности. Следовательно, большое пятно может возникнуть только в том случае, если рекомбинация произойдет в раннем эмбриогенезе, а маленькое – если она произойдет на более поздних стадиях развития. Возможно, что наиболее интересными данными, полученными с помощью описанной методики, оказались данные, касающиеся ограничения потенций клеток в процессе эмбриогенеза. Потомки рекомбинантной клетки, возникшей в раннем развитии, могут быть обнаружены в разных частях органа. Однако по мере развития потенции клеток сужаются, и пространственная локализация потомков рекомбинантной клетки, возникшей на более поздних этапах развития, ограничивается меньшей группой терминальных структур.

В этих экспериментах было обнаружено удивительное явление: потомки одной рекомбинантной клетки никогда не пересекают определенных границ имагинального диска. Значит, детерминация происходит в неперекрывающихся пространственных

структурах – компартаментах. В развитии имагинального диска детерминационное событие происходит в группе прилежащих друг к другу клеток, происходящих от нескольких родоначальных клеток, и поэтому называемых **поликлоном**. Вскоре после формирования бластодермы 10–50 клеток, которые в будущем образуют мезоторакальный имагинальный диск, подразделяются на два поликлона (рис. 18.12). Из одного поликлона формируется передняя часть крыла и большая часть дорсальной части груди, а из другого – задняя часть крыла и остальные структуры дорсальной части груди. Мутантный клон может быть локализован только в одном из компарментов и не может распространяться в другой. Следующий этап детерминации приводит к сегрегации крылового имагинального диска от ножного. Границы между передним и задним компартаментами крылового диска в последующем развитии сохраняются. На третьем этапе детерминируются клетки дорсальной и вентральной поверхности крыла, а также обособляются клетки в центральной части диска, родоначальники собственно поверхности крыла и его шарнирной части. Таким образом, имагинальный диск подразделяется на ряд компарментов, границы которых определяют дальнейшую онтогенетическую судьбу находящихся внутри них клеток (Crick, Lawrence, 1975; Garcia-Bellido, 1975; Kauffman et al., 1978).

На рис. 18.13 представлен крыловой имагинальный диск и границы компарментов, формирующих определенные имагинальные структуры. Мутантные пятна, как уже было отмечено, не могут пересекать передней и задней его части – они могут быть локализованы только в передней или только в задней части крыла. Клон может быть рядом с границей, но не может переходить ее. На рис. 18.13 (справа) представлен профиль большого клона, задняя часть



Рис. 18.12. Последовательное выделение компартментов в крыловом имажинальном диске 2-го грудного сегмента. Мезоторакальную кутикулу формируют передний и задний поликлоны, инициальные клетки которых дивергируют на стадии бластодермы. Сегрегация дорсального (крылового) и вентрального (ножного) компартментов происходит в течение первых десяти часов развития. Крыловой и ножной диски теперь топографически отделены друг от друга, но в каждом из них сохранена первоначальная граница переднего и заднего компартмента. Последующая компартментализация делит имажинальный диск на дорсальный и вентральный компартменты, каждый из которых формирует поликлоны центральной (крыловой) и периферической (нотумной) части имажинального торакса. (По Morata, Lawrence, 1977.)

которого совпадает с границей компартмента. Следовательно, клетки получают сигнал (пока неизвестной природы), инструктирующий их о пространственном расположении.

До сих пор ничего не известно о том, как возникают границы компартментов, однако, судя по некоторым данным, формирование одной из самых протяженных границ в крыловом диске коррелирует с появлением на поверхности клеток определенных гликопротеинов. Дорсовентральная компартментализация крыловых дисков происходит у

личинки третьего возраста. В это время на поверхности дорсальных и вентральных клеток происходит дифференциальная экспрессия определенных веществ (рис. 18.14) (Brower et al., 1985).

Формирование границ компартментов сопряжено с коммуникационными особенностями пограничных клеток. Это установлено с помощью инъекций низкомолекулярного флуоресцирующего красителя (желтого люцифера) в группы клеток имажинального диска. Краситель способен мигрировать от клетки к клетке через щелевые контакты. Уэйр и Ло



Рис. 18.13. Границы компартментов крылового диска. Слева. Границы компартментов на карте презумптивных зачатков крылового имажинального диска. Линия 1 разделяет передний и задний компартменты; линия 2—дорсальную и вентральную части крыловой пластинки; линия 3 отделяет латеральную часть торакса от дорсальной (шарнирной) части крыла (линия 3a) и нотумную часть крыловой пластинки от собственно крыла (линия 3b); линия 4 делит нотум на скутеллярную и скутумную области (линия 4a); полагают, что в латеральной части груди располагается другая линия—линия 4; линия 5 отделяет свободную поверхность крыла от его шарнирной части; Справа. Проекция границ компартментов на имажинальное крыло. Область, покрытая точками, соответствует большому клону генетически маркированных клеток, задний край которого проходит по переднезадней границе, не пересекая ее. (По Lawrence, Morata, 1976.)

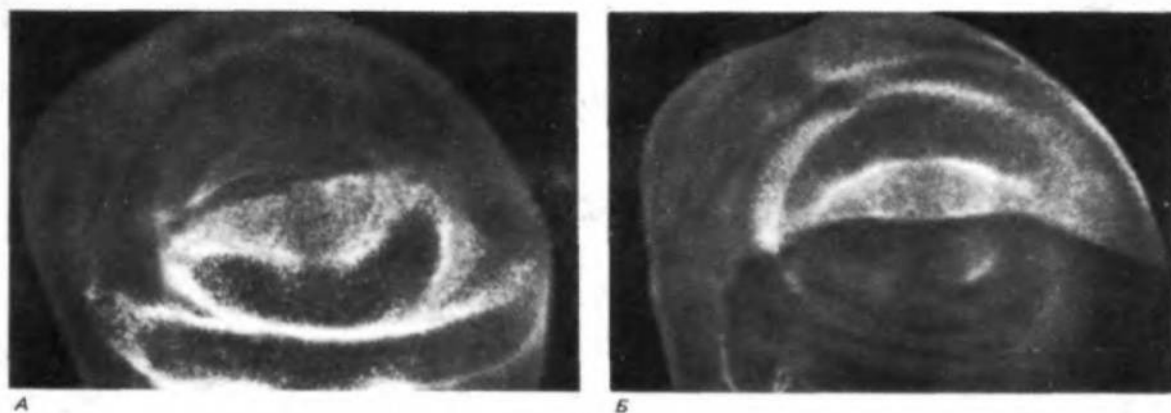


Рис. 18.14. Фрагмент крылового имажинального диска личинки позднего (3-го) возраста, окрашенного флуоресцирующими моноклональными антителами. А. PS1-антиген обнаружен на поверхности клеток дорсальной (нижней) части диска, а антиген PS2 (Б) – на вентральной (верхней) поверхности. В обоих случаях полоска более низкой интенсивности свечения разделяет передний (левый) и задний (правый) компартменты имажинального диска. (По Brower et al., 1985; фотографии с любезного разрешения D. Brower.)

(Weir, Lo, 1982) установили, что первоначальная локализация распространяющегося красителя совпадает с передним и задним компартментами (рис. 18.15). Позже краситель концентрируется в небольших группах клеток, располагающихся вдоль формирующихся границ других компартментов.

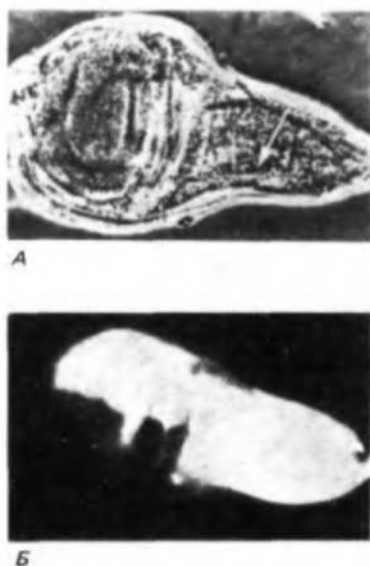


Рис. 18.15. А. Фазовоконтрастная микрофотография имажинального крылового диска дрозофилы, в нотумную часть которого инъецирован люцифер желтый (место инъекции отмечено стрелкой). Б. Флуоресценция клеток диска через 52 мин после инъекции. Краситель перемещается по клеткам проспективного нотума в переднюю часть крыла. Перемещение в заднюю половину диска ограничено. (Из Weir, Lo, 1982; фотографии с любезного разрешения С. Lo.)

Таким образом, ограничение коммуникации между клетками щелевыми контактами, по-видимому, играет какую-то роль в формировании или поддержании границ между компартментами.

Мутации, нарушающие число сегментов

Три типа генов сегментации

Личинки и взрослые особи плодовой мухи имеют сегментарный тип строения и состоят из передних головных (цефалических), трех грудных (торакальных) и восьми брюшных (абдоминальных) сегментов (рис. 18.16). Каждый из трех имажинальных грудных сегментов несет по паре ног, однако второй грудной сегмент (Т2) несет еще пару крыльев, а третий (Т3) – жужжальца (балансёры). Эти характерные особенности позволяют без труда идентифицировать любой из грудных сегментов. Каждый из них подразделен на передний и задний компартменты, формируемые поликлонами детерминированных клеток.

Активность генов с материнским эффектом, особенности проявления которых обсуждались в гл. 7, – первый этап становления пространственной организации у дрозофилы. Неоднородное распределение в цитоплазме яйцеклетки продуктов этих генов определяет продольную (переднезаднюю) и дорсовентральную полярности зародыша. Мутации этих генов приводят к нарушениям (нехваткам или удвоениям) головных, хвостовых, дорсальных или вентральных структур. На втором этапе становления пространственной организации активны гены, контролирующие число сегментов у личинки. Мута-

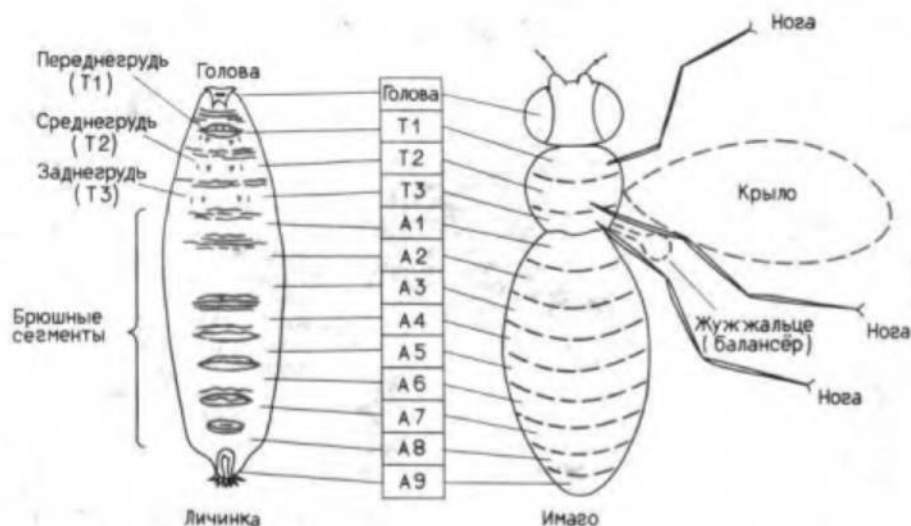


Рис. 18.16. Сегментация личинки и имаго дрозофилы. Грудные (торакальные) сегменты отличаются друг от друга по тем структурам, которые на них развиваются: переднегрудной сегмент (T1) несет пару ног, среднегрудной сегмент (T2) – крылья и ноги, заднегрудной сегмент (T3) – жужжальца (балансёры) и ноги.

ции этих генов приводят к нарушению числа, а также полярности сегментов. Некоторые из **генов сегментации** представлены в табл. 18.2. У мутантов по гену *Krüppel* (рис. 18.17) отсутствует целая группа сегментов. Отсюда и название генов, контролирующих образование этих сегментов – **gap-гены** (от англ. gap – брешь, пролом, щель).

Еще один набор генов сегментации представлен **генами pair-rule**. На рис. 18.17 – это ген *fushi tarazu*. Мутации генов *pair-rule* вызывают нарушение формирования половины сегментов: либо четных, либо

Таблица 18.2. Гены, контролирующие сегментацию у дрозофилы

Группа	Локус
Segment-polarity	<i>cubitus interruptus</i> ^D (<i>ci^D</i>) <i>wingless</i> (<i>wg</i>) <i>engrailed</i> (<i>en</i>) <i>hedgehog</i> (<i>hh</i>) <i>fused</i> (<i>fu</i>) <i>paxh</i> (<i>pax</i>) <i>armadillo</i> (<i>arm</i>)
Pair-rule	<i>paired</i> (<i>prd</i>) <i>even-skipped</i> (<i>eve</i>) <i>odd-skipped</i> (<i>odd</i>) <i>barrel</i> (<i>brr</i>) <i>hairy</i> (<i>h</i>) <i>runt</i> (<i>run</i>) <i>odd-paired</i> (<i>opa</i>) <i>fushi tarazu</i> (<i>ftz</i>)
Gap	<i>Krüppel</i> (<i>Kr</i>) <i>knirps</i> (<i>kni</i>) <i>hunchback</i> (<i>hb</i>) <i>giant</i> (<i>gt</i>)

По Nüsslein-Volhard, Wieschaus, 1980 и др.

нечетных. На рис. 18.18 показаны структуры кутикулы нормальной личинки и летального мутанта по гену группы *pair-rule* – *fushi tarazu*, у которого отсутствует каждый четный сегмент.

Наконец, существуют мутации (например, мутация *engrailed*), при которых сохраняется нормальное число сегментов, но в каждом сегменте определенный участок заднего компартмента утрачен и замещен структурой, зеркально отражающей морфологию переднего компартмента. Эти гены составляют группу **генов segment-polarity**. Фенотипы всех представленных в этом разделе мутаций наводят на мысль о существовании контроля сегментации на трех уровнях: яйца, пары сегментов и отдельного сегмента (Nüsslein-Volhard, Wieschaus, 1980).

Парасегменты и пространственная регуляция экспрессии генов

Отчетливо видно, что личинки насекомых сегментированы (рис. 18.1; 18.16; 18.18). Сегменты отделяются друг от друга глубокими бороздками в эпидермисе в месте сочленения заднего компартмента одного и переднего компартмента следующего сегмента. Границы сегментов маркированы полосками хитиновых зубчиков. Однако столь простая сегментация, по-видимому, не является первичной. Некоторые авторы (Martinez-Arias, Lawrence, 1985) полагают, что первичными единицами скорее всего являются **парасегменты**. Парасегмент сдвинут на пол-фазы, т.е. на один компартмент по отношению к сегменту и, таким образом, состоит из заднего компартмента одного и переднего компартмента последующего сегмента, как показано на рис. 18.19. Есть основания полагать, что парасегменты играют важную роль в развитии насекомых. Об этом свиде-

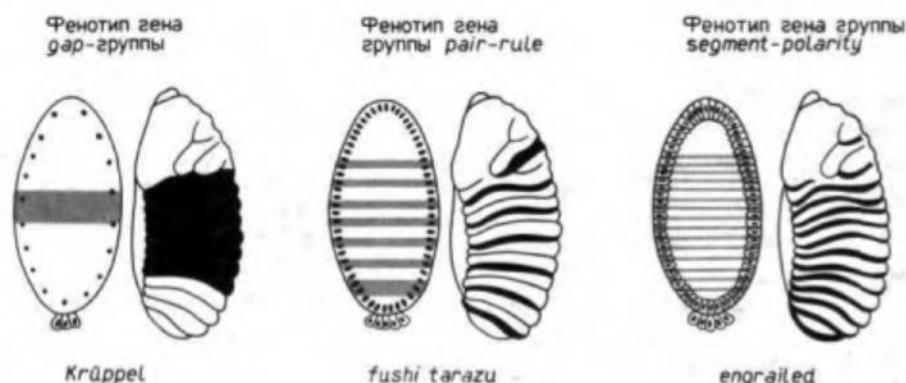


Рис. 18.17. Три группы генов сегментации, мутации которых нарушают характер этого процесса. Слева от каждого из трех мутантов представлены схематические зарисовки зародышей на стадии дробления; на этих рисунках серым цветом обозначены участки, транскрибируемые у зародышей дикого типа; на рисунках справа представлено нарушение характера сегментации (черный цвет) мутантов, проявляющееся на поздних стадиях зародышевого развития. (По Scott, O'Farrell, 1986.)

тельствуют следующие факты. Во-первых, у личинки имеются два дополнительных полусегмента, по одному на каждом конце зародыша. Один из них является задним компартментом, предшествующим первому головному сегменту, а другой – передним компартментом, следующим за 8-м абдоминальным сегментом. Во-вторых, как будет описано ниже, анатомические структуры личинки соответствуют парасегментарному, а не сегментарному типу организации. Оба типа метамерии зародыша дрозофилы играют важную роль в становлении пространственной организации, причем парасегментарное строение, по-видимому, предшествует сегментарному.

Последовательность экспрессии генов сегментации

Для объяснения пространственной организации вдоль переднезадней оси было предложено несколько моделей. Большая часть из них, следуя Майнхардту (Meinhardt, 1986), постулирует активность трех групп генов сегментации. Экспрессию этих генов исследуют методом гибридизации *in situ* их клонированной ДНК на гистологических препаратах зародышей дрозофилы. Эмбриональные закладки, в которых транскрибируются гены сегментации, могут быть легко идентифицированы по связыванию радиоактивного зонда с комплементарной РНК.

Продукты генов с материнским эффектом формируют градиенты и локально распределенные морфогены вдоль продольной оси яйца. Предполагают, что гены *gap*-группы на синцитиальных стадиях развития интерпретируют позиционную информацию, возникшую в яйцеклетке благодаря активности генов материнского организма, и подразделяют зародыш на несколько пространственных доменов. Ген *hunchback(hb)* экспрессируется в парасегментах 1, 2, 3, 13 и в переднем компартменте 14-го; ген *Krüppel (Kr)* – в 4, 5, 6 и заднем компартменте 14-го, ген *knirps* – с 7-го по 12-й (рис. 18.20). Характер экспрессии генов *gap*-группы изменяется во времени, однако домены их экспрессии остаются неперекрывающимися (Jäckle et al., 1986).

Следующими активируются гены группы *pair-rule*. В первоначальном характере их экспрессии трудно обнаружить закономерность, однако к четырнадцатому циклу дробления активность генов данной группы концентрируется в определенных ядрах. На рис. 18.21, А показан зебровый тип транскрипции гена *fushi tarazu(ftz)* (по-японски *fushi tarazu* означает редукцию числа сегментов). Ген *ftz* активен в семи полосках, каждая шириной в три ядра. Эти полоски соответствуют четным парасегментам, которые отсутствуют у *ftz*⁻ мутантов



Рис. 18.18. Кутикула вылупившейся личинки дрозофилы дикого типа и мутанта по одному из генов группы *pair-rule*. А. Кутикула личинки дикого типа состоит из 3 грудных и 8 брюшных сегментов. Три головных сегмента во время эмбриогенеза сливаются и инволюируют. Б. Кутикула мутанта *fushi tarazu*. Следует обратить внимание на отсутствие у мутанта нечетных сегментов (Hafen et al., 1984a; фотография с любезного разрешения W.J. Gehring.)

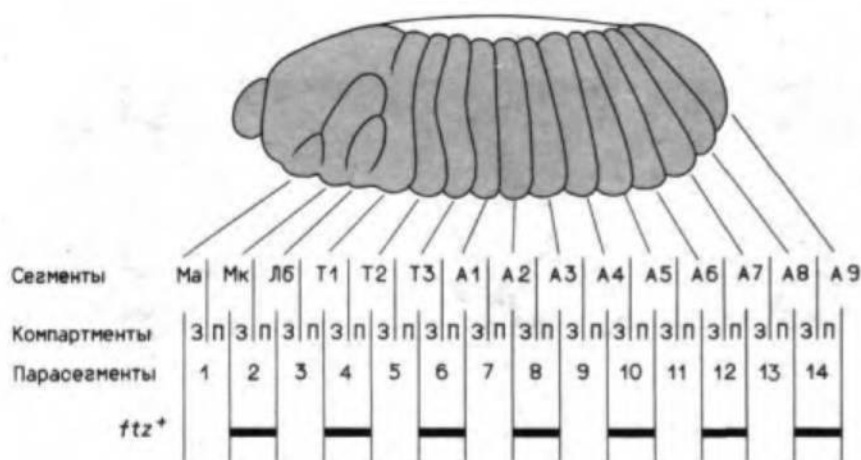


Рис. 18.19. Сегменты и парасегменты. П и 3—передний и задний компартменты сегментов. Парасегменты сдвинуты на один компартмент вперед по отношению к соответствующему сегменту. Ма—мандибулярный, Мк—максиллярный и Л6—верхнегубной сегменты головы; Т—грудные (торакальные) сегменты; А—брюшные (абдоминальные) сегменты. Парасегменты пронумерованы цифрами от 1 до 14. Внизу рисунка представлены выявленные методом гибридизации *in situ* границы экспрессии гена группы *pair-rule*—*fushi tarazu* (*ftz*).

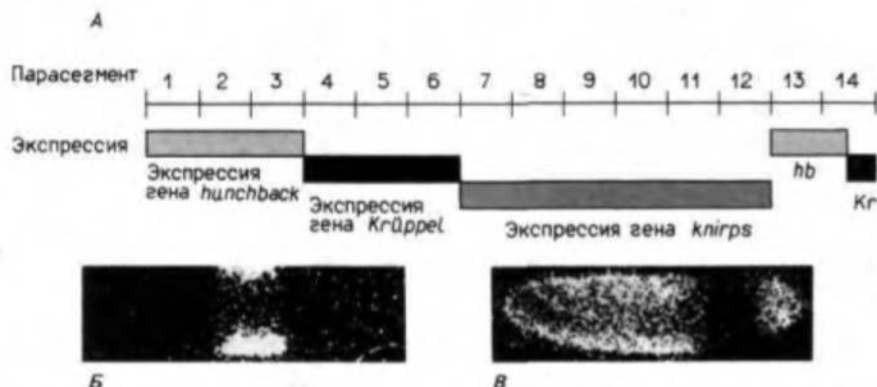


Рис. 18.20. Домены экспрессии генов *gap*-группы. А. Неперекрывающиеся домены экспрессии генов *gap*-группы: локализация активности генов *hunchback* (*hb*) и *Krüppel* (*Kr*) выявлена методом гибридизации с кДНК *in situ*, а гена *knirps*—на основании его фенотипического проявления у мутантов. Б. Радиоавтограф, полученный в результате гибридизации *in situ* ДНК гена *Kr* с его мРНК; активность этого гена выявлена в 4-, 5- и 6-м парасегментах зародыша дикого типа. (На темнопольной фотографии белые точки соответствуют зернам серебра, восстановленного под действием радиоактивного излучения.) В. Гибридизация *in situ* ДНК генов *Kr* и *hb* на одном препарате выявляет предполагаемую область экспрессии гена *knirps* (темнопольная фотография). (Jäckle et al., 1986.)

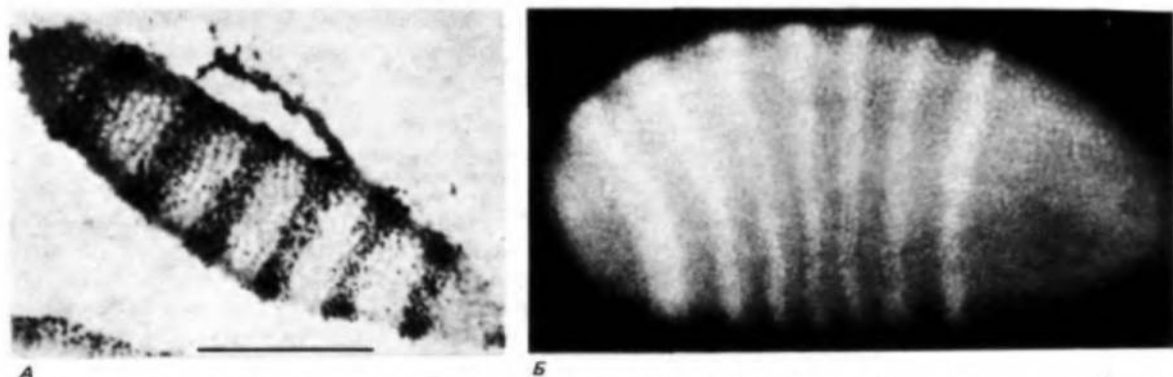


Рис. 18.21. Экспрессия гена *fushi tarazu* (*ftz*) в клетках бластомеры дрозиды. Транскрипционная активность ядер была выявлена методом гибридизации *in situ* радиоактивной одноцепочечной ДНК клонированного гена *ftz* с клеточной РНК. Белковый продукт гена *ftz* удалось идентифицировать с помощью окрашивания иммунофлуоресцентными антителами к нему. А. Локализация семи полос транскрипционной активности гена *ftz* в клетках бластомеры. На светопольной радиоавтограмме темные полосы соответствуют местам связывания радиоактивного зонда. Б. Иммунофлуоресценция продукта гена *ftz* в клетках бластомеры. (А—из Hafen et al., 1984а; с любезного разрешения W.J. Gehring; Б—с любезного разрешения S.B. Carroll, M.P. Scott.)

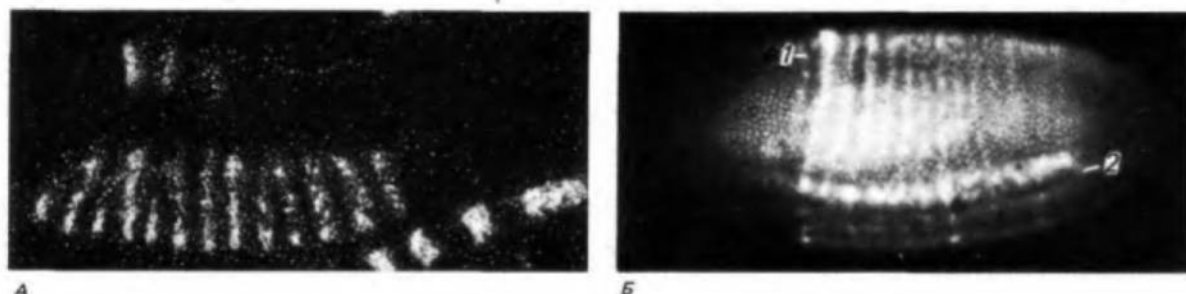


Рис. 18.22. Экспрессия гена *engrailed* в клетках бластодермы дрозофилы. А. Локализация 14 полос транскриптов гена *engrailed* в бластодерме. Обратите внимание на их разную интенсивность. Ширина каждой полосы — одна клетка. Б. Распределение 14 полос белка *engrailed*. Белок, как и мРНК, первоначально появляется в передней части зародыша, а затем в заднем компартменте каждого сегмента. 1 — головная складка; 2 — вентральная бороздка. (А — из Howard, Ingham, 1986; с любезного разрешения Р. Ingham; Б — из O'Farrell et al., 1985; с любезного разрешения Р. O'Farrell.)

(Hafen et al., 1984a; Gehring, 1985). Клетки, лишенные продукта гена *ftz*, погибают. Было показано, что ген *ftz* дикого типа (и другие гены группы *pair-rule*) кодируют какой-то белок. Белковые продукты этих генов можно выявить с помощью флуоресцирующих антител, распределение которых совпадает с распределением соответствующей данному гену мРНК (рис. 18.21, Б). Таким образом, *ftz* и другие гены группы *pair-rule* подразделяют зародыши на повторяющиеся домены шириной по два парасегмента, в одном из которых этот ген активен, а в другом — нет.

Третий класс генов сегментации — это гены группы *segment-polarity*, которые активны в каждом



Рис. 18.23. Локализация транскриптов гена *engrailed* в антеннальном имажинальном диске личинки дикого типа. Гибридизация *in situ* при инкубации имажинального диска с радиоактивной кДНК гена *engrailed*. Его экспрессия обнаруживается только в клетках заднего компартмента. (Из Kornberg et al., 1985; фотография с любезного разрешения Т. Kornberg.)

сегменте. Один из них, ген *engrailed*, экспрессируется в заднем компартменте каждого сегмента (или переднем компартменте каждого парасегмента) во время 14-го деления дробления. Транскрипционная активность гена *engrailed* (Kornberg et al., 1985; Howard, Ingham, 1986) обнаружена в 14 поперечных полосках шириной в одну клетку, 15-я полоска появляется во время гастрюляции. Позиция полосок соответствует зачаткам задних компартментов сегментов (рис. 18.22), для нормального развития которых необходима активность гена *engrailed*. Возникающие в результате кроссинговера клоны клеток *en/en* утрачивают специфичность к определенному компартменту и могут нарушать границы компартментов (Lawrence, Morata, 1976). Транскрипты гена *engrailed* накапливаются в клетках задних компартментов имажинальных дисков дикого типа (рис. 18.23) (Kornberg et al., 1985).

Таким образом, переднезадняя ось зародыша дрозофилы детерминирована гетерогенностью цитоплазмы яйца, которая последовательно определяет формирование сначала сегментарных доменов, затем пар сегментов и отдельных сегментов и, наконец, компартментов.

Установление последовательности экспрессии генов

Прямой метод установления взаиморегуляции генов состоит в анализе характера экспрессии одного гена в клетках зародыша, мутантного по другому гену. Например, у всех изученных мутантов по генам с материнским эффектом и генам *gap*-группы нарушена транскрипция гена *ftz* (Carroll, Scott, 1986; Carroll et al., 1986). При гибридизации *in situ* радиоактивной ДНК гена *ftz* было установлено нарушение характера его экспрессии у мутантов по данным группам генов (рис. 18.24). Мутация гена *Krüppel*, например, обуславливает утрату центральных парасегментов. Экспрессия гена *ftz* у этих мутантов не

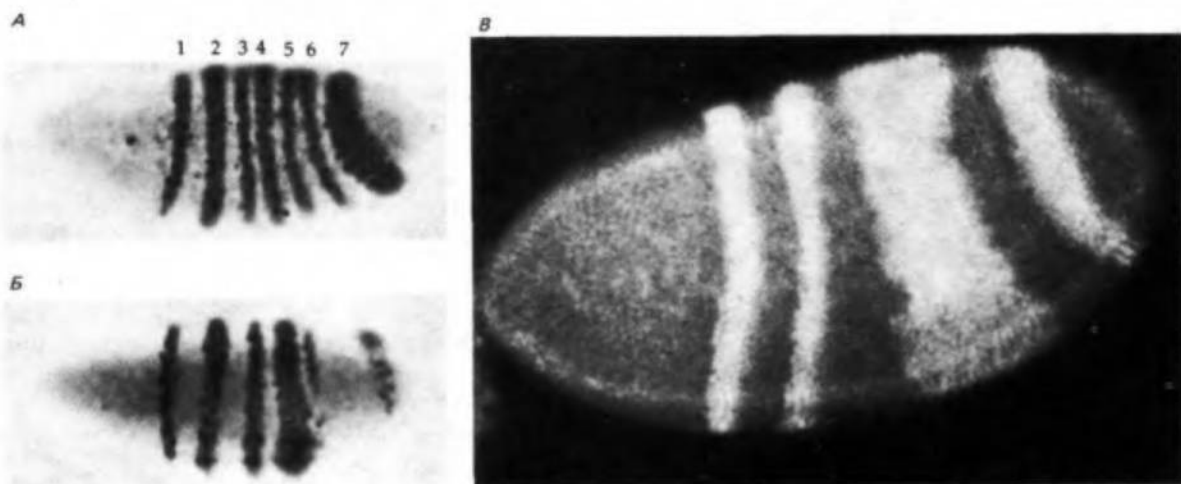


Рис. 18.24. Влияние активности генов с материнским эффектом на транскрипцию гена *ftz*. А. Нормальный продукт транскрипции гена *ftz* в зародыше дикого типа. Б. Изменение транскрипции этого гена у зародыша, развившегося из яйца, отложенного мутантной по гену *caudal* самкой: ген *ftz* не активен в задних сегментах. В. Нарушение распределения белкового продукта гена *ftz* в зародышах, развившихся из яиц, отложенных гомозиготными по мутации *oskar* самками: возникают только 4 полосы, причем в брюшной части ген активен в большем числе клеток (А, Б – радиоавтографы из MacDonald, Struhl, 1986; В – флуоресцентная микрофотография из Carroll et al., 1986; фотографии с любезного разрешения Р. MacDonald, G. Struhl, S. B. Carroll, M. P. Scott.)

отличается от нормальной экспрессии в 1-, 2-, 3-, 11-, 12-, 13-, 14-м парасегментах, но сильно нарушена (либо отсутствует совсем) в центральных парасегментах (Ingham et al., 1986). Следовательно, экспрессия генов с материнским эффектом и генов гар-группы предшествует экспрессии гена *ftz* и таким образом регулирует его активность.

Экспрессия *ftz* не нарушена у мутантов по генам группы *segment-polarity*; исходя из этого, можно считать, что ген *ftz* экспрессируется до генов указанной группы. Однако мутации каждого из 8 генов группы *pair-rule*, включая и *ftz*, нарушают характер экспрессии гена *engrailed*. У мутантов по гену *ftz* транскрипты гена *engrailed* обнаружены только в нечетных парасегментах и не обнаружены в четных. У мутантов по гену *paired* ген *engrailed* транскрибируется только в четных парасегментах (Harding et al., 1986; MacDonald et al., 1986). Приведенные данные свидетельствуют о следующей последовательности генетической регуляции: гены с материнским эффектом контролируют гены гар-группы, те в свою очередь контролируют гены группы *pair-rule*, а они – гены группы *segment-polarity*.

Кроме вертикальной иерархии существует и горизонтальная – взаиморегуляция генов одной группы. Нарушение экспрессии трех генов группы *pair-rule* приводит к изменению характера экспрессии гена *ftz*, другие пять генов данной группы этим свойством не обладают (Carroll, Scott, 1986; Howard, Ingham, 1986). Таким образом, сложный процесс формирования пространственной организации зародыша

является производным различных комбинаций продуктов генов с материнским эффектом и трех типов генов сегментации. Полагают, что эти гены активируют другую группу регуляторов – гомеозисные селекторные гены.

Установление специфичности сегмента: гомеозисные гены

Как только происходит установление границы сегмента, начинают формироваться его специфические черты. Этот процесс контролируют **гомеозисные селекторные гены**. Если отличительным свойством мутаций генов сегментации является утрата отдельных частей тела, то мутации гомеозисных генов проявляют причудливый фенотип: они трансформируют один сегмент в другой. Как описано в гл. 9, доминантная мутация *Antennapedia* (*Antp*) приводит к появлению мезоторакальных ног на месте структур антенны. Каким-то образом головные сегменты у мутантов *Antp* приобретают сходство со вторым грудным сегментом. Более того, у личинок с делецией гена *Antp* отсутствуют структуры второго грудного (мезоторакального) сегмента. Полагают, что гомеозисные гены дикого типа контролируют развитие определенных популяций клеток.

В третьей хромосоме дрозофилы выявлены две области, содержащие кластеры гомеозисных генов (рис. 18.25). В одной из них локализован **комплекс *Antennapedia***, включающий следующие гомеозисные

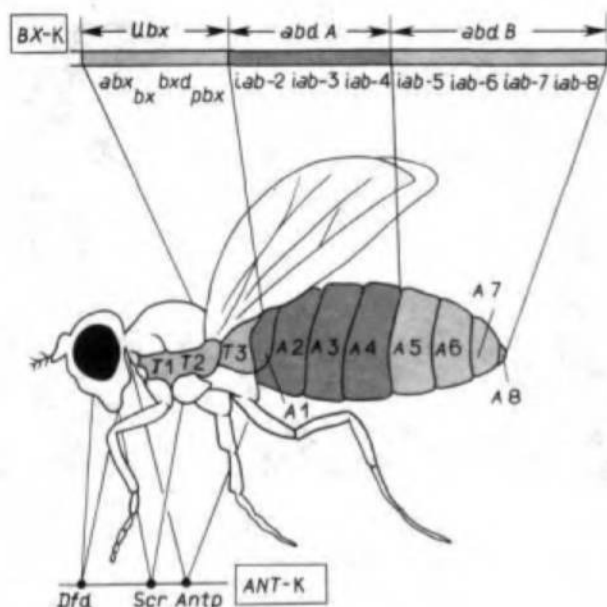


Рис. 18.25. Функциональные домены генов bithorax- и Antennapedia-комплексов у дрозофилы. Bithorax-комплекс (BX-K) (верхний ряд) состоит из трех летальных комплементарных групп (выявленных Sanchez-Herrero с коллегами), внутри которых Льюис идентифицировал несколько гомеозисных генов. В комплексе Antennapedia (ANT-K) (нижний ряд) входят гены *Deformed* (*Dfd*), *Sex comb reduced* (*Scr*) и *Antennapedia* (*Antp*). (По Harding et al., 1985.)

гены: *Antennapedia* (*Antp*), *Sex comb reduced* (*Scr*) и *Deformed* (*Dfd*). Гены этой области контролируют развитие структур головы, первого грудного сегмента и переднего компартмента второго грудного сегмента (Wakimoto et al., 1984). Во второй области локализован **bithorax-комплекс**, гены которого детерминируют развитие остальных грудных и всех брюшных сегментов (Lewis, 1978). Этот комплекс включает три гена, кодирующих белки: *Ultrabithorax* (*Ubx*), *Abdominal A* (*abd A*) и *Abdominal B* (*abd B*). Выделить гомеозисные гены первоначально удалось с помощью генетических методов, в частности комплементационного гибридологического анализа, основанного на появлении фенотипов дикого типа при скрещивании особей, мутантных по генам разных локусов, и мутантных фенотипов — при скрещивании особей, мутантных по аллельным генам (Sanchez-Herrero et al., 1985). Оказалось, что летальный фенотип компаунда трех мутаций *Ubx*, *abd A* и *abd B* идентичен мутантам с делецией всего комплекса bithorax (Casanova et al., 1987). Это подтверждает данные о том, что рассматриваемый комплекс имеет только три транскрипционные единицы.

Все шесть описанных гомеозисных генов удалось клонировать и с помощью метода гибридизации in

situ установить характер их экспрессии (Harding et al., 1985). Транскрипты каждого локуса обнаружены в разных частях зародыша (результаты этих экспериментов представлены на рис. 18.25). У гомеозисных мутантов нормальная транскрипция нарушена. Ген *Antennapedia* дикого типа, например, нормально экспрессируется в торакальных сегментах, проявляя наибольшую активность в мезоторакальном сегменте. Предполагают, что активность гена *Antp* подавляет развитие головных структур в грудных сегментах. У доминантного мутанта по гену *Antennapedia* транскрипты гена *Antp* обнаружены не только в груди, но и в голове, что приводит к развитию торакальных структур на месте антенны (рис. 18.39) (Frischer et al., 1986; Schneuwly et al., 1987).

Все три гена комплекса bithorax необходимы для нормального онтогенеза дрозофилы, однако их экспрессия во многих сегментах позволяет усомниться в том, что именно они являются генами-селекторами. Многочисленные исследования экспрессии генов гомеозисных комплексов позволили высказать по этому поводу ряд предположений. Одно из них сделано Льюисом (Lewis, 1978, 1985), который обратил внимание на то, что все девять сегментов (один грудной и восемь брюшных) у мутантов с полностью делетированным комплексом bithorax развиваются по типу второго торакального сегмента (рис. 18.26). Исходя из этого, Льюис предположил, что именно второй грудной сегмент (несущий и крылья, и ноги) представляет собой ту эволюционную единицу, от которой произошли все остальные сегменты, расположенные в каудальном от него направлении.

Льюис постулировал, что формирование каждого последующего сегмента, начиная со второго торакального, контролирует по крайней мере на один ген bithorax-комплекса больше, чем предыдущего. Например, развитие третьего торакального сегмента обеспечивает активность генов основного (мезоторакального) уровня плюс активность специфического гена(генов) третьего грудного сегмента (рис. 18.27). Мутации генов этой последней группы превращают третий грудной сегмент в сегмент, подобный второму грудному сегменту. Развитие первого абдоминального сегмента обеспечивает суммарная активность генов второго и третьего грудных сегментов вкуче с активностью специфического гена данного абдоминального сегмента. Мутация этого специфического гена приводит к развитию на его месте структур третьего грудного сегмента. Активация различных батарей генов в различных сегментах может быть объяснена градиентом гипотетического репрессора, ингибирующего экспрессию всех этих генов. Наибольшая концентрация репрессора должна быть в передних сегментах, где включено наименьшее число генов, а наименьшая кон-

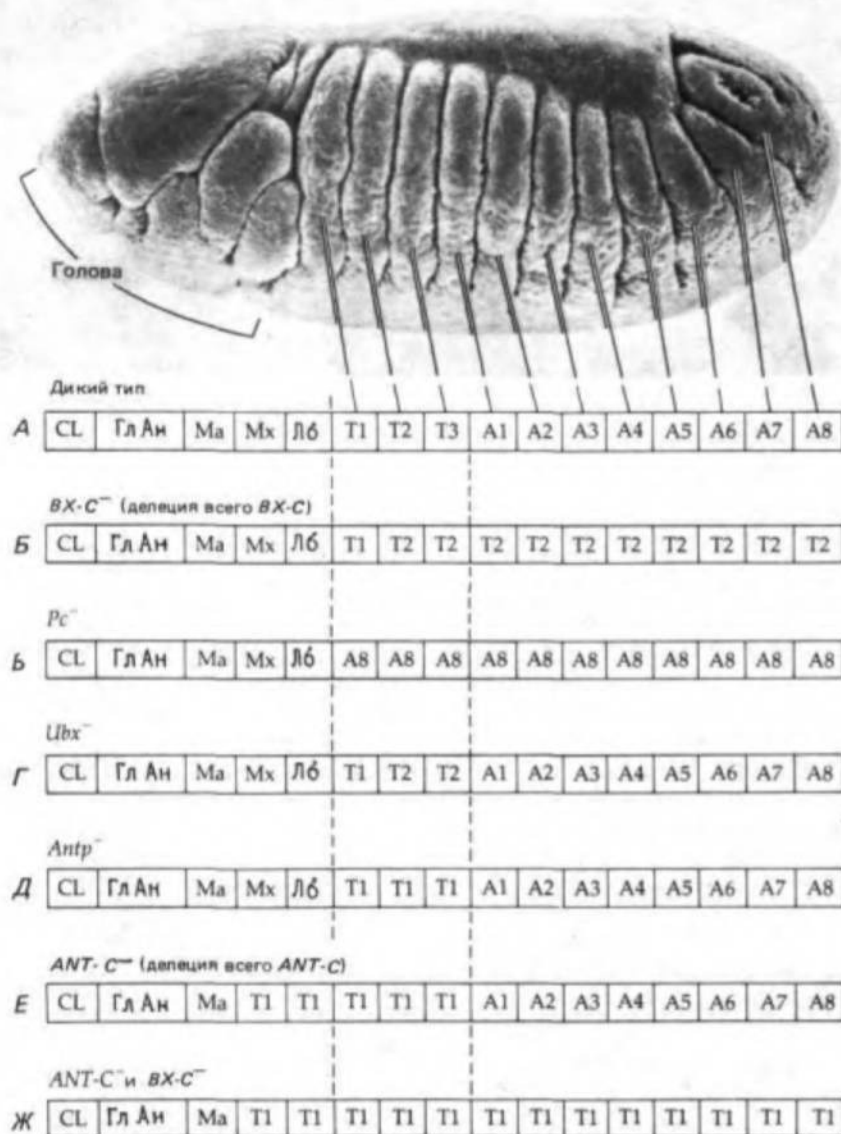


Рис. 18.26. Сегментация личинки и ее нарушение у гомеозисных мутантов и мутантов по их генам-регуляторам. А – Нормальная личинка состоит из головных, трех грудных и восьми брюшных сегментов. Б. Делеционный мутант по всему комплексу *bithorax* (*BX-C⁻*); головные и первые два грудных сегмента нормальные, а все остальные трансформированы в сегменты мезоторакального типа. В. У личинок, мутантных по гену *Polycomb* (*Pc*), все сегменты (кроме головных) развиваются по типу 8-го брюшного сегмента. Г. Личинка, мутантная по локусу *Ubx*; сегмент Т3 трансформирован в сегмент Т2, как у особи, представленной на рис. 18.28. Д. Личинка, мутантная по гену *Antp*; сегменты Т2 и Т3 трансформированы в Т1. Е. В случае делеции всего комплекса *Antennapedia* лабиальный и максиллярный сегменты проявляют сходство с сегментом Т1. Ж. Делеция обоих комплексов приводит к развитию всех сегментов, начиная с верхнечелюстного по типу сегмента Т1. Гл Ан – глазоантеннальный сегмент; остальные обозначения, как на рис. 18.1. (Raff, Kaufman, 1983.)

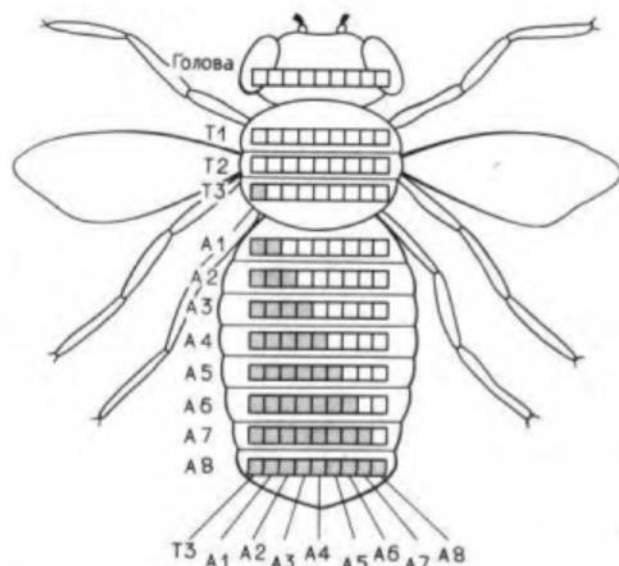


Рис. 18.27. Генетическая регуляция генов комплекса bithorax (модель Льюиса). Второй торакальный сегмент является базисным. В каждом последующем (более каудальном) сегменте активируется дополнительный ген (гены). В терминальном восьмом брюшном сегменте экспрессируются все гены. (По Spierer, Goldschmidt-Clermont, 1985.)

центрация — в каудальных сегментах. Кроме того, продукты генов, контролирующих развитие терминальных сегментов, должны обладать большим сродством к молекулам репрессора. Следовательно, в передних сегментах эти гены окажутся выключенными. Они будут активированными только в задних сегментах, в которых концентрация репрессора наименьшая.

Одним из претендентов на роль продуцента молекул репрессора является ген *Polycomb* (*Pc*). У мутантов по гену *Pc* все грудные и брюшные сегменты развиваются по типу восьмого брюшного (рис. 18.26) (Wedeen et al., 1986). У таких *Pc*⁻ зародышей активность генов *abd A* и *Abd B*, обычно проявляющаяся только в задних сегментах, перемещается в центральные части зародыша и обнаруживается в клетках центральной нервной системы личинки.

Но как гипотеза Льюиса объясняет то, что bithorax-комплекс содержит только три гена, синтезирующих белки? Льюис и его коллеги (Bender et al., 1983; Karch et al., 1985) выявили новые генетически значимые области комплекса, которые также обуславливали гомеозисные трансформации: мутации генов *anterobithorax* (*abx*) и *bithorax* (*bx*) вызывали развитие переднего компартмента третьего грудного сегмента (передние жужжальца) в передний компартмент второго торакального сегмента, несущего крылья. Подобно этому, мутации генов

posterobithorax (*pbx*) и *bithoraxoid* (*bxd*) трансформировали задний компартмент третьего грудного сегмента в задний компартмент второго грудного сегмента. Комбинация мутаций *abx*, *pbx* и *bxd* трансформирует весь третий сегмент во второй, что приводит к развитию мухи с четырьмя крыльями (рис. 18.28). Сначала полагали, что данные мутации соответствуют трем отдельным локусам, однако в настоящее время их считают мутациями энхансеров (усилителей), которые определяют тканеспецифический характер экспрессии гена *Ubx* (Lewis, 1985; Peifer et al., 1987). Соответствие *cis*-регуляторных генов трем транскрипционным единицам комплекса *bithorax* показано на рис. 18.29. Кодрующие белок области комплекса *bithorax* занимают менее десятой доли его ДНК. Регуляторные последовательности локуса находятся во фланкирующих (слева и справа) областях гена либо в их интронах.

Анализ мутаций гомеозисных генов и их делеций установил, что гены *abx*, *bx* и *bxd* представляют собой *cis*-регуляторные элементы. Делеция гена *Ubx* вызывает трансформацию пятого парасегмента (заднего компартмента второго и переднего компартмента третьего грудных сегментов) и шестого парасегмента (заднего компартмента третьего грудного сегмента и переднего компартмента первого брюшного сегмента) в четвертый парасегмент (задний компартмент первого грудного и передний компартмент второго грудного сегментов). Такая трансформация детальная; несущие ее зародыши погибают до вылупления.

У мутантов *abx* и *bx* трансформация ограничена только пятым парасегментом, который превращается в четвертый парасегмент, так как именно в пятом парасегменте репрессирован ген *Ubx* (Casanova et al., 1985; Peifer, Bender, 1986). Поэтому из



Рис. 18.28. Четырехкрылая дрозофила развивается в результате мутаций трех *cis*-регуляторов гена *Ultrabithorax*. Эти мутации трансформируют 3-й грудной сегмент во второй (т. е. жужжальца в крылья). (Фотография с любезного разрешения E. B. Lewis.)

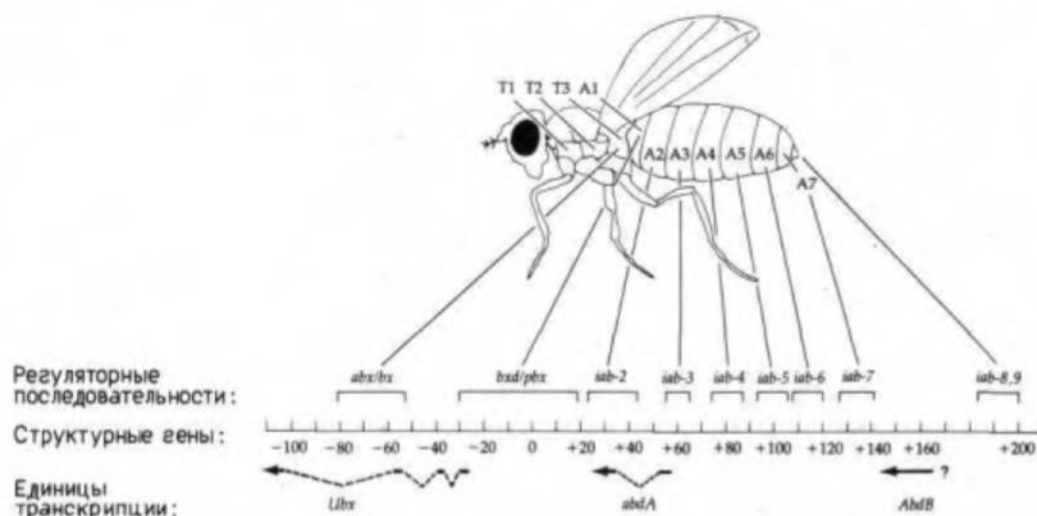


Рис. 18.29. Мутации комплекса bithorax. Непрерывная линия представляет участок комплекса длиной в 300 тыс. пар нуклеотидов. Ниже представлены три единицы транскрипции, которым соответствуют три гомеозисных белка. Каждый из этих генов транскрибируется справа налево. Экзоны изображены сплошными жирными линиями, интроны — штриховыми. (Структура гена *abdB* полностью не ясна.) В верхнем ряду представлены регуляторные последовательности, выявленные генетическим анализом. Наклонные линии соотносят гомеозисный ген с передней частью сегмента, нарушенного у мутанта. (По Peifer et al., 1987.)

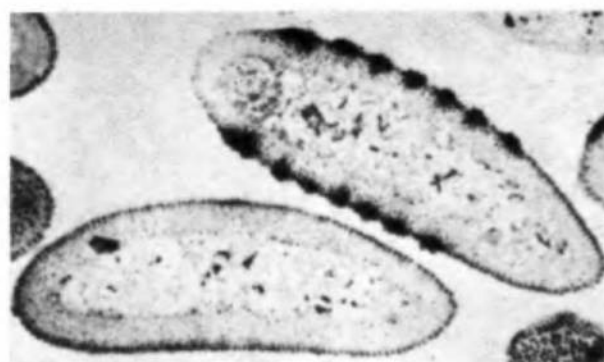
переднего компартмента жужжальца развивается передний компартмент крыла. Сходным образом ген *bxd* репрессирует активность *Ubx* в шестом парасегменте (Peifer et al., 1987).

Как видно из рис. 18.29, число регуляторных локусов должно быть равно числу сегментов, контролируемых bithorax-комплексом. Это соответствует модели Льюиса. Анализ механизмов *cis*-регуляторного контроля парасегментарной и тканеспецифической экспрессии трех структурных генов bithorax-комплекса должен объяснить закономерности генетического контроля онто- и филогенетического становления пространственной организации дрозофилы.

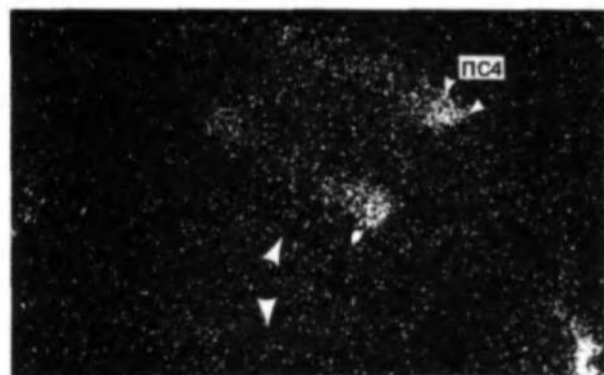
Регуляция регуляторов

Генетический контроль при формировании пространственной организации у дрозофилы осуществляется посредством взаимодействия генов и их продуктов на трех уровнях. Первый уровень — это гены с материнским эффектом *bicaudal*, *bicoid* и *caudal* (см. гл. 7), устанавливающие переднезадний градиент (Meinhardt, 1986). На втором уровне гены сегментации интерпретируют возникший градиент и формируют набор парасегментов благодаря экспрессии генов гар-группы, отдельные парасегменты — благодаря экспрессии генов группы pair-rule и их компартменты — благодаря экспрессии генов группы segment-polarity. Третий уровень характеризует активность гомеозисных генов, определяющих мор-

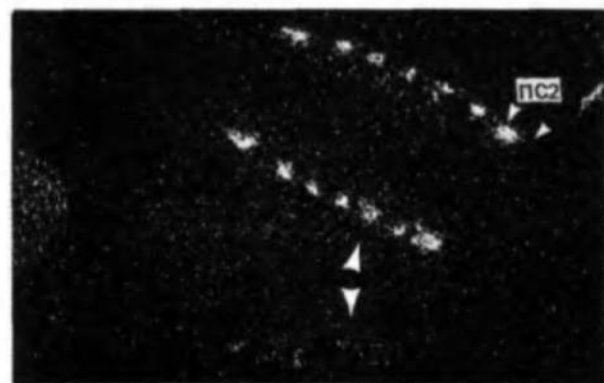
фологическую специфику отдельного парасегмента. Последовательная активация генов разных уровней устанавливает полярность ооцита и границы компартментов на стадии клеточной бластомеры, а экспрессия гомеозисных селекторных генов вскоре после гаструляции детерминирует судьбу отдельных групп клеток. Характер проявления мутации *Polycomb*, обуславливающей идентичность всех восьми абдоминальных сегментов, доказал независимый характер становления числа и положения (периодичности) сегментов от активности гомеозисных генов. Экспрессия генов сегментации, по-видимому, регулирует экспрессию гомеозисных генов двумя путями. Во-первых, гены, устанавливающие компартменты, детерминируют парасегментарные границы, в пределах которых транскрибируются гомеозисные гены (Akam, 1985). Таким образом, несмотря на экспрессию гена *Ultrabithorax* в парасегментах 5–13, он активен и у мутанта по гену гар-группы *hunchback* (White, Lehmann, 1986). Экспрессия гена *Ubx* в необычном для него месте приводит к трансформации головных и грудных сегментов в брюшные. Во-вторых, активация гомеозисных генов может зависеть от продуктов компартментализующих генов. Такая зависимость обнаружена с помощью гибридизации *in situ* радиоактивной ДНК с транскриптами гомеозисных генов. Рядом авторов (Duncan, 1986; Ingham, Martinez-Arias, 1986) было показано, что нормальная активность некоторых гомеозисных селекторных генов зависит от экспрессии гена *fushi tarazu* (рис. 18.30). В бластомере



А



Б



В

зародышей *ftz*⁻ активность гена *Antennapedia* (который обычно экспрессируется в парасегментах 3 и 4) и гомеотического гена *Six comb reduced* (который обычно экспрессируется в семи парасегментах) ингибирована.

Удалось получить прямые данные, свидетельствующие о взаимодействии гена *ftz* с гомеозисными генами (Robertson, 1987). Это оказалось возможным благодаря конструированию плазмиды, у которой промоторы генов *Ubx* и *Antp* соединены с геном хлорамфениколацетилтрансферазы (ген *CAT*). По наличию или отсутствию хлорамфениколацетилтрансферазы можно судить о том, экспрессировался ли ген *CAT* или нет. Кроме того, была сконструирована плазида с геном *ftz*, имеющим сильный активный промотор, благодаря которому ген экспрессировался практически в любой клетке. Различные комбинации плазмид трансфицировали в культуру клеток дрозиды, инкубировали их в течение 1–3 сут и измеряли уровень ферментативной активности белка *CAT* (рис. 18.31). Клетки, трансфицированные геном *CAT* с промотором *Ubx* или *Antp* не экспрессировали хлорамфениколацетилтрансферазу. Однако если ген *ftz* также трансфицировали в клетку, то активный промотор активировал ген *CAT*. Таким образом, присутствие гена сегментации *ftz* необходимо для активации промоторов гомеозисных генов *Ultrabithorax* и *Antennapedia*.

Гомеозисные гены также способны регулировать экспрессию других гомеозисных генов. Гены *Antennapedia* и *Ultrabithorax* характеризуются комплементарностью экспрессии: *Ubx* активен в парасегментах с пятого по тринадцатый (с максимальным уровнем транскрипции в шестом парасегменте), а *Antp* – в третьем и четвертом. В *Ubx*⁻ зародыше активность гена *Antennapedia* не ограничена третьим и четвертым парасегментами, он начинает транскрибироваться в брюшке (Hafen et al., 1984b). Ген комплекса *bithorax* – *abd A* – также регулирует активность гена *Ubx*. Отсутствие активности *Abd A* приводит к сильно выраженной экспрессии гена *Ubx* в парасегментах 6–12, хотя обычно он экспрессируется в сегменте 6. В результате происходит гомеозисная трансформация парасегментов 7–12 в копии парасегмента 6. Следовательно, *abd A* осуществляет негативную регуляцию гена *Ubx* (Struhl, White, 1985).

Рис. 18.30. Зависимость экспрессии двух гомеозисных генов от активности гена сегментации *fushi tarazu*. Гибридизация *in situ* радиоактивных зондов ДНК *ftz* проведена на соседних срезах от двух зародышей на стадии клеточной бластодермы: нормальном (верхний из двух представленных на каждой части рисунка) и мутантном по гену *ftz* (нижний). А. Радиоавтография среза, на котором проводилась гибридизация с радиоактивной ДНК *ftz*: 7 полос РНК обнаружены в зародышах дикого типа и не обнаружены у мутантов по гену *ftz*. Б. Темнопольный радиоавтограф, полученный с использованием радиоактивной ДНК гена *Antennapedia*, показывает его экспрессию в 4-м парасегменте нормального зародыша (ПС4 и маленькие стрелки) и ее отсутствие у зародышей с мутацией *ftz* (большие стрелки). В. Темнопольный радиоавтограф гибридизации радиоактивной ДНК гена *Sex comb reduced* (*Scr*), выявленной в 7 полосах у зародыша дикого типа, которые совпадают с активностью гена *ftz*. мРНК гена *Scr* не обнаружена у мутантных по гену *ftz* зародышей даже во 2-м парасегменте (ПС2 и большие стрелки). (Ingham, Martinez-Arias, 1986; фотография с любезного разрешения авторов.)

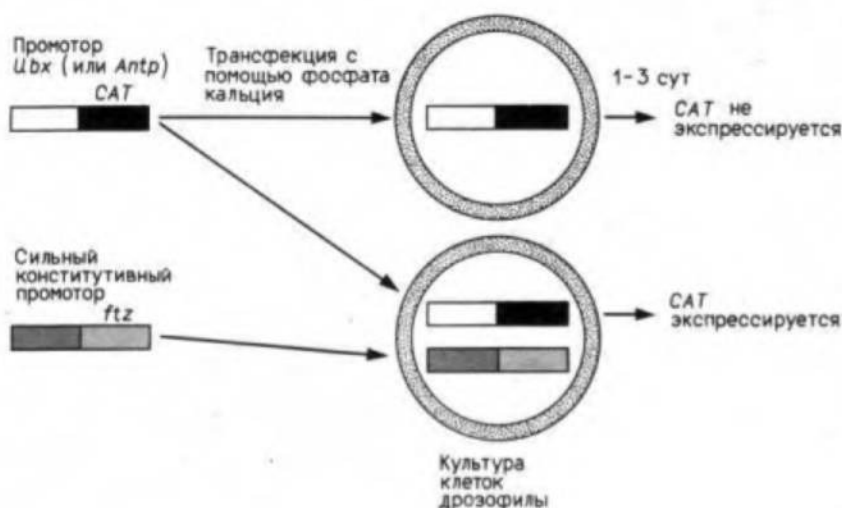


Рис. 18.31. Влияние гена *fushi tarazu* на транскрипцию двух гомеозисных генов. Культура клеток дрозофилы не экспрессирует трансфицированный в нее ген хлорамфениколацетилтрансферазы (CAT), присоединенный к промоторам генов *Ubx* и *Antp*. Однако совместная трансфекция гена CAT с промотором гена *Ubx* (или *Antp*) и плазмиды гена *ftz* с сильным активным промотором приводит к активации промоторов гомеозисных генов и экспрессии гена CAT.

Взаиморегуляцию гомеозисных генов удалось обнаружить *in vitro* (Krasnow et al. по Robertson, 1987). Как указывалось выше, совместная трансфекция гена CAT с промотором *Antp* и гена *ftz* с промотором актина обуславливала появление ферментативной активности белка CAT. Однако трансфекция третьей плазмиды – гена *Ubx* с сильным промотором – заметно снижала уровень синтеза белка. Следовательно, продукт гена *Ubx* дикого типа ингибирует промотор *Antp*. Причем продукт гена *Ubx* стимулирует гиперпродукцию белка геном CAT в плазмиде с промотором *Ubx*, а экспрессия гена *Ubx*, по-видимому, ингибирует *Antp* и активирует свою собственную транскрипцию (рис. 18.32). Множественные *cis*-регуляторные области *bithorax*-комплекса, вероятно, имеют сайты связывания с гомеозисными белками, действующими как *транс*-регуляторы.

Молекулярная биология генов, контролирующих пространственную организацию зародыша

Принято считать, что знание структуры любого биологического объекта (будь то кость или ген) приближает нас к пониманию его функций. Структура гомеозисных генов нацеливает исследователя на понимание сложных форм регуляции, поскольку клонирование гомеозисных генов установило далеко не простой характер их организации. Некоторые из них имеют несколько промоторов и сайтов инициации транскрипции. Ген *Antennapedia*, например, транскрибирует два типа РНК, причем синтез одной из них происходит внутри интрона другой (18.33) (Frischer et al., 1986). РНК некоторых гомеозисных генов, в частности гена *Ultrabithorax*, подвергаются

тканеспецифическому дифференциальному сплайсингу. Другие гены, такие, как *fushi tarazu*, имеют множественные энхансерные области (Hiromi, Gehring, 1987). Последовательность ДНК рядом с геном *ftz* контролирует полосатый (тип зебра) характер его экспрессии. Присоединение его к другим генам приводит к появлению у них зебровой формы транскрипции. Левее элемента «зебра» расположен участок ДНК, ответственный за экспрессию *ftz* в клетках центральной нервной системы, а еще выше – энхансер зебровой формы проявления данного гена. Продукт гена *ftz* регулирует энхансер-зебра (рис. 18.34).

Последовательности ДНК, контролирующие становление пространственной организации, формируют сложные гены, которые регулируют такое становление, по-видимому, не только по принципу «включен – выключен», но и с помощью сочетания набора их альтернативных состояний. Способность клеток, экспрессирующих одни и те же гомеозисные гены в разных сегментах, формировать разные морфологические структуры возможна при соблюдении следующих условий: 1) регуляция синтеза гомеозисных белков в разных клетках должна осуществляться на разных уровнях, 2) в различных клетках должны возникать различные комбинации гомеозисных белков, 3) продукты генов сегментации должны сохраняться, чтобы модифицировать продукты гомеозисных генов и 4) в различных клетках должен происходить альтернативный сплайсинг или альтернативный процессинг (Scott, Carroll, 1987). Это особенно важно в случае активации гомеозисными генами различных батарей генов. Существуют данные в пользу каждой из предложенных моделей.

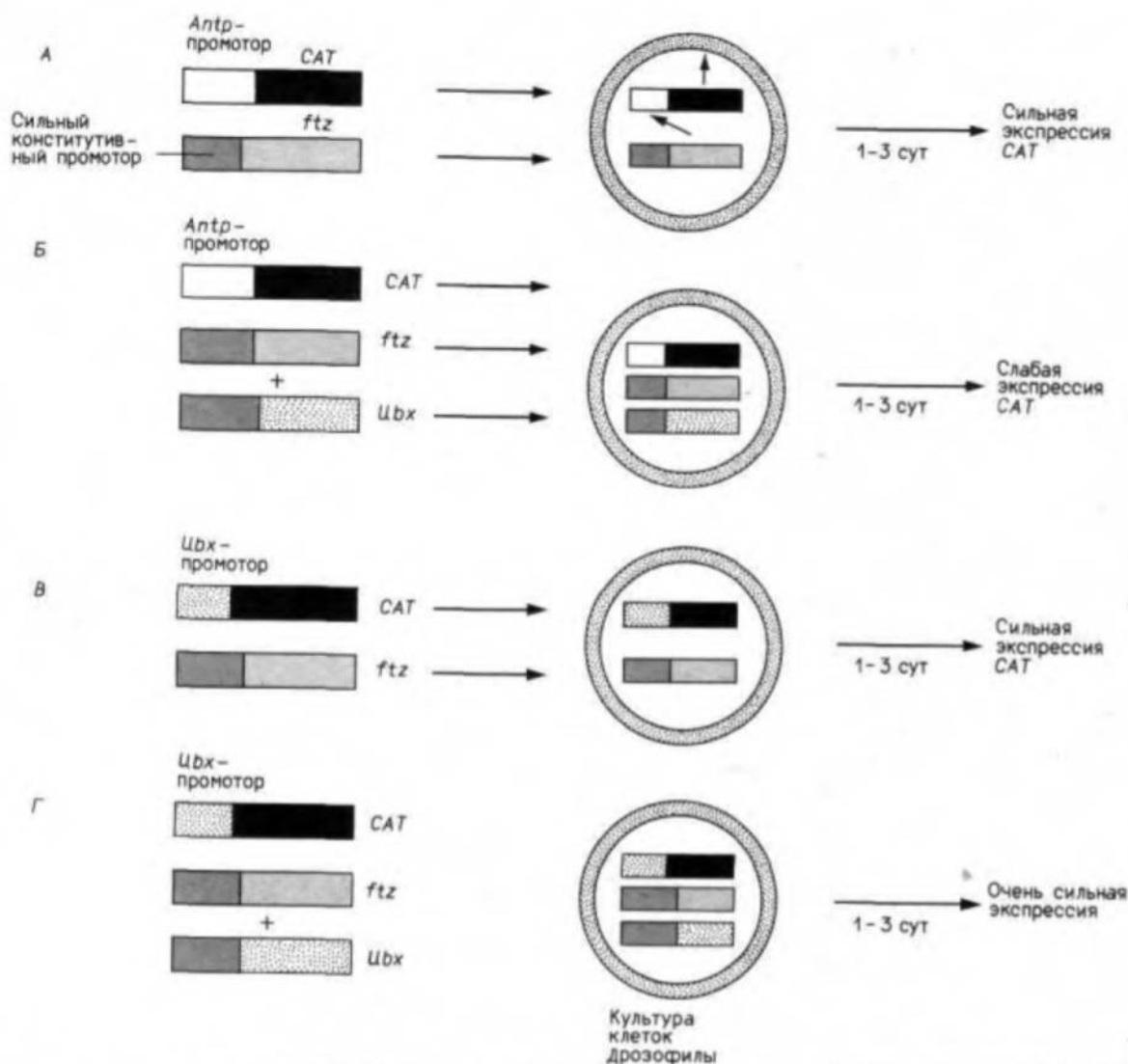


Рис. 18.32. Регуляторные взаимодействия двух гомеозисных генов. *А, Б.* Репрессия промотора *Antp* продуктом гена *Ubx*. *А.* Если ген *CAT* слит с промотором *Antp*, то в присутствии продукта гена *ftz* происходит транскрипция гена *CAT*. *Б.* Добавление в систему (*А*) продукта гена *Ubx* приводит к репрессии гена *CAT*. *В, Г.* Автостимуляция промотора *Ubx* продуктом гена *Ubx*. *В.* Ген *CAT* с промотором *Ubx* транскрибирует *CAT* в присутствии продукта гена *ftz*. *Г.* Добавление в систему продукта гена *Ubx* вызывает усиленную продукцию белка *CAT*.

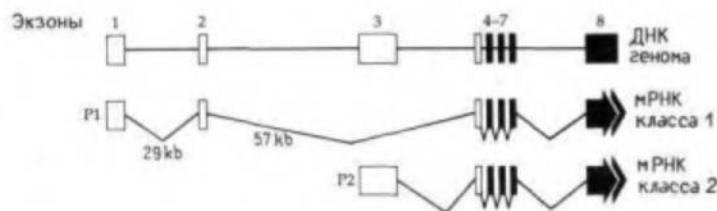


Рис. 18.33. Транскрипция гена *Antennapedia* инициируется в любом промоторе: P1 или P2. На самом деле белок *Antennapedia* кодируют 5-8-й экзоны (черные). Терминация транскрипции может происходить в двух местах (двойные стрелки 8-го экзона). (По Frischer et al., 1986.)

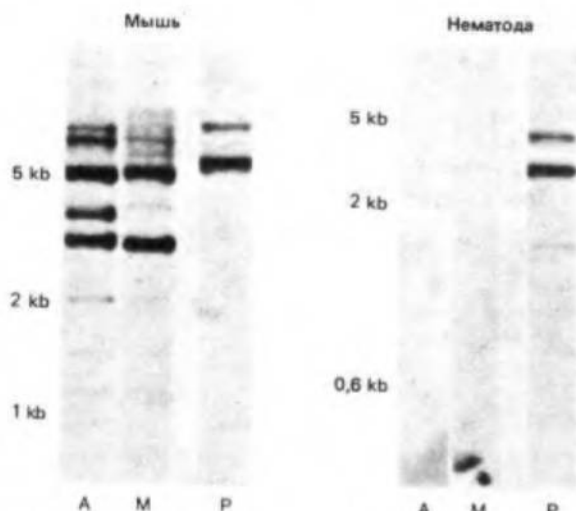


Рис. 18.36. Перенос по Саузерну ДНК мыши и ДНК нематоды, обработанных рестриктазой *EcoRI* и гибридизованной с ДНК гена *Antennapedia*. Электрофорез ДНК мыши выявил 7 полос. А, М – зонды гомеобоксов; Р – зонд рибосомной РНК. Цифры слева от дорожек указывают на величину соответствующих фрагментов в килобаз (kb). (Holland, Hogan, 1986; фотографии с любезного разрешения В. Hogan.)

al., в печати). Этого и следует ожидать при условии, что разные комбинации белков с гомеодоменом активируют различные батареи структурных генов.

Другой категорией данных в пользу принципиальной роли гомеобокса в развитии является его жесткая филогенетическая консервативность. Удивительное сходство можно обнаружить при сравнении гомеодоменов гена *MM3* лягушки и гена *Anten-*

napedia дрозофилы (рис. 18.35). В данном случае 59 из 60 аминокислотных остатков одинаковы, несмотря на то, что мухи и лягушки развивались независимо около 600 млн. лет (Müller et al., 1984). Тестирование генома различных животных радиоактивной ДНК гена *Antennapedia*, имеющего гомеобокс, с помощью Саузерн-переноса позволило выявить у них гены с гомеобоксом (рис. 18.36). Выделение генов с гомеобоксом оказалось возможным благодаря клонированию и скринингу их клонов ДНК гена *Antp*. Такие гены удалось обнаружить у лягушек, мышей, человека, иглокожих, аннелид и моллюсков; у плоских и круглых червей, дрожжей и миксомицетов они не обнаружены (Holland, Hogan, 1986). У человека и мыши гены с гомеобоксом активны в определенное время и определенных тканях в раннем развитии. Так же как и у насекомых, они экспрессируются в нервной системе (Simeone et al., 1986; Awgulewitsch et al., 1986). Один из них – *Hox-2.1*, – локализованный в хромосоме 11 мыши, активен в клетках заднего мозга на 11–13 сут развития. Другой ген – *Hox-3.1*, – находящийся в хромосоме 15, экспрессируется в шейном и грудном отделах спинного мозга, а *Hox-1.3*, активность которого также обнаружена в грудных структурах, первоначально экспрессируется в клетках осевой мезодермы и нейральной эктодермы (рис. 18.37). Гомеодомен гена *Hox-1.5* мыши присоединяется к своему собственному гомеобоксу (Fainsod et al., 1986). Приведенные данные позволяют утверждать, что у позвоночных гены с гомеобоксом выполняют морфогенетические функции. Если это действительно так, то обнаружен один из фундаментальных принципов онтогенеза животных.



Рис. 18.37. Локализация мышиного гена *Hox-1.3*, содержащего гомеобокс, выявленная методом гибридизации *in situ*. Срезы 9-дневного зародыша мыши фиксировали и окрашивали (А) или инкубировали с радиоактивными нуклеотидами, полученными с помощью клонированного гена *Hox-1.3* (Б). мРНК гена обнаружена в осевой мезодерме и нервной трубке. Ген экспрессируется на 8–13-е сутки эмбриогенеза мыши. (Из Dony, Gruss, 1987; фотографии с любезного разрешения Р. Gruss.)

Дополнительные сведения и гипотезы Эволюция на основе гомеозисных генов?

В конце 30-х гг. Рихард Гольдшмидт и Конрад Уоддингтон предположили, что гомеозисные гены являются тем звеном, которое связывает развитие, генетику и эволюцию. Уоддингтон (Waddington, 1940) подчеркивал, что гомеозисные гены представляют собой эмбриональные переключатели, способные регулировать направление дифференцировки. Гольдшмидт (Goldschmidt, 1938) рассматривал гомеозисные гены как гены, вызывающие одновременно крупные изменения в развитии зародыша и, таким образом, играющие важную роль в эволюционном процессе. Вниманию, которое уделяли гомеозисным генам Гольдшмидт и Уоддингтон, предвосхищало успехи науки наших дней. Используя делеционные мутанты дрозофилы, можно в общих чертах воспроизвести эволюционное становление этого вида (рис. 18.38). Полагают, что дрозофила как представитель отряда двукрылых происходит от насекомых с четырьмя крыльями. Этот эволюционный шаг может быть генетически смоделирован делецией гена *Ubx* (рис. 18.28). Исследователи считают, что крылатые насекомые происходят от первичнобескрылых насекомых. Это можно представить как результат делеции гена *Antennapedia*, которая трансформирует все грудные сегменты в первый грудной сегмент, не имеющий крыльев. Бескрылые насекомые произошли от членистоногих, подобных многоножкам. Это имитирует делеция всего *bithorax*-комплекса и соответствующая ей трансформация всех брюшных сегментов в грудные. И наконец, делеция обоих наборов гомеозисных генов (*Antennapedia*- и *bithorax*-комплексов) приво-

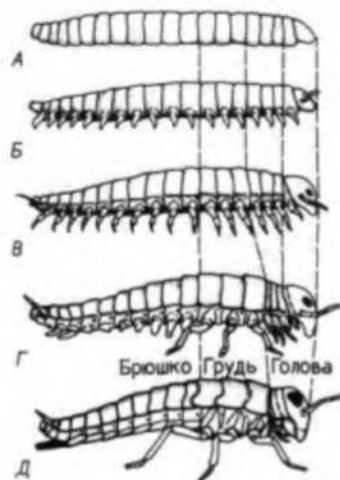


Рис. 18.38. Схема эволюционных преобразований насекомых, контролируемых гомеозисными генами. А. Аннелиды. Б. Онихофоры. В. Многоножки. Г. Бескрылые насекомые. Д. Насекомые с крыльями. (По Raff, Kaufman, 1983.)

дит к состоянию примитивных членистоногих — онихофор. Рэфф и Кофмен утверждают, что благодаря последовательным делециям относительно небольших участков наследственной молекулы можно раскапывать слои генетического грунта. Однако они предостерегают от буквальной интерпретации подобной аналогии, поскольку полная делеция даже одного комплекса *Antennapedia* приводит к появлению не многоножки, а летального мутанта.

Формирование специфического фенотипа клеток: позиционная информация

На заключительном этапе реализации генотипа у дрозофилы активируются специфические батареи генов (в основном благодаря их активации белковыми продуктами гомеозисных генов). Это чрезвычайно сложное событие происходит на основе двух процессов. Одним из них является дифференцировка, во время которой клетка получает инструкцию относительно спектра белков, которые ей предстоит синтезировать. Однако до этого клетка должна определить свою позицию: находится ли она, например, во втором грудном сегменте около основания ноги (около коксы или вертлуга) или около ее терминальных структур (лапки или коготка)? Типы

клеток в этих структурах могут быть идентичны друг другу, однако различны по своей позиции.

Отсюда следует, что спецификация клеток — способность формировать определенную структуру внутри морфогенетического поля — не зависит от типа детерминации клетки. Например, детерминация клеток имажинальных дисков существенно различается: крыловые диски развиваются в крылья, ножные — в ноги, однако спецификация их может быть идентичной. Это иллюстрирует гомеозисный мутант *Antennapedia*, у которого структуры антенны трансформированы в структуры ноги (Postlethwait, Schneiderman, 1971). Изредка трансформация может захватывать целую антенну и она вся превращается в ногу, однако чаще она ограничена отдельными члениками антенны. В этом последнем случае категория замещений проявляет позиционную специ-

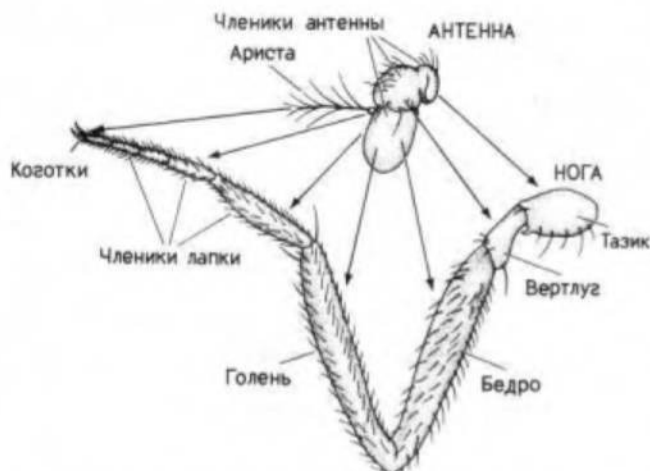


Рис. 18.39. Соответствие структур антенны и ноги. У мутанта *Antennapedia* отдельные членики антенны трансформированы в структуры ноги (см. рис. 9.6, Б). Стрелки указывают трансформацию структур одного органа в другой. (По Postlethwait, Scheiderman, 1971.)

фичность. Клетки антеннального диска, в норме формирующие дистальный членик антенны (аристу), способны трансформироваться только в дистальные структуры ноги (коготки); клетки второго членика антенны — только во второй сегмент ноги и т. д. Оба органа, антенна и нога, и соответствующие превращения структур антенны в структуры ноги представлены на рис. 18.39. На основании приведенных результатов следует сделать вывод о том, что два различно детерминированных диска используют один и тот же механизм спецификации судьбы отдельных клеток.

Мы еще только начинаем постигать закономерности воздействия генома на строение того или иного организма. Гены, регулирующие формирование пространственной организации у дрозофилы, функционируют в соответствии с определенными принципами. Во-первых, с временным принципом транскрипции разных групп генов; во-вторых, с принципом пространственной детерминации распределения активности генов, осуществляемой взаимодействием с продуктами экспрессии генов данной группы и предшествующих групп генов; в-третьих, в соответствии с позицией клетки на продольной оси зародыша, гетерогенность которой определена пространственным распределением соответствующих генных продуктов. Взаимодействие продуктов различных генов детерминирует судьбу клетки. Однако механизмы, на основе которых гены сегментации интерпретируют различные концентрации продуктов генов с материнским эффектом и определяют активность гомеозисных генов, остаются загадкой, равно как и механизмы активации специфических

наборов генов, определяющих конечный фенотип клетки.

Мы далеки от полного понимания законов формирования пространственной организации дрозофилы, но все-таки ближе к нему, чем 5 лет назад. Анализ продуктов мутантных и нормальных аллелей дрозофилы явился первым шагом в исследовании многоуровневой регуляции становления пространственной организации у более сложных организмов. Следующее десятилетие должно ознаменоваться получением новых знаний о плодовой мухе и ее развитии.

ЛИТЕРАТУРА

- Akam M.E. (1985). Segments, lineage boundaries and the domains of expression of homeotic genes, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B* **312**, 179–187.
- Augulewitsch A., Utset M.F., Hart C.P., McGinnis W., Ruddle F.H. (1986). Spatial restriction in expression of a mouse homeobox locus within the central nervous system, *Nature*, **320**, 328–335.
- Brower D.L., Piovant M., Reger L.A. (1985). Developmental analysis of *Drosophila* position-specific antigens, *Dev. Biol.*, **108**, 120–130.
- Carroll S.B., Winslow G.M., Schüpbach T., Scott M.P. (1986). Maternal control of *Drosophila* segmentation gene expression, *Nature*, **323**, 278–280.
- Carroll S.B., Scott M.P. (1986). Zygotically active genes that affect the spatial expression of the *fushi tarazu* segmentation gene during early *Drosophila* embryogenesis, *Cell*, **45**, 113–126.
- Casanova J., Sanchez-Herrero E., Busturia A., Morata G. (1987). Double and triple mutant combination of the bithorax complex of *Drosophila*, *EMBO J.*, **6**, 3103–3109.
- Casanova J., Sanchez-Herrero E., Morata G. (1985). Prothoracic transformation and functional structure of the *Ultra-bithorax* gene of *Drosophila*, *Cell*, **42**, 663–669.
- Crick F.H.C., Lawrence P.A. (1975). Compartments and polyclones in insect development, *Science*, **189**, 340–347.
- Desplan C., Theis J., O'Farrell P.H. (1985). A *Drosophila* developmental gene, *engrailed*, encodes a sequence-specific DNA binding activity, *Nature*, **318**, 630–635.
- Dony C., Gruss P. (1987). Specific expression of the *Hox-1.3* homeo box gene in murine embryonic structures originating or induced by the mesoderm, *ENBO J.*, **6**, 2965–2975.
- Duncan I. (1986). Control of bithorax complex functions by the segmentation gene *fushi tarazu* of *D. melanogaster*, *Cell*, **47**, 297–309.
- Edgar B.A., Schubiger G. (1986). Parameters controlling transcriptional activation during early *Drosophila* development, *Cell*, **44**, 871–877.
- Fainsod A., Bogarad L.D., Ruusala T., Lubin M., Crothers D.M., Ruddle F.H. (1986). The homeo domain of a murine protein binds 5' to its own homeobox, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 9532–9536.
- Foe V.E., Alberts B.M. (1983). Studies of nuclear and cytoplasmic behavior during the five mitotic cycles that precede gastrulation in *Drosophila* embryogenesis, *J. Cell Sci.*, **61**, 31–70.
- Frischer L.E., Hagen F.S., Garber R.L. (1986). An inversion that disrupts the *Antennapedia* gene causes abnormal structure and localization of RNAs, *Cell*, **47**, 1017–1023.

- Garcia-Bellido A. (1975). Genetic control of wing development in *Drosophila*, Ciba Found. Symp., **29**, 161-182.
- Gehring W.J. (1985). Homeotic genes, the homeobox, and the genetic control of development, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **50**, 243-251.
- Goldschmidt R.B. (1938). Physiological Genetics, McGraw-Hill, New York.
- Hafen E., Kuroiwa A., Gehring W.J. (1984a). Spatial distribution of transcripts from the segmentation gene *fushi tarazu* during *Drosophila* embryonic development, Cell, **37**, 833-841.
- Hafen E., Levine M., Gehring W.J. (1984b). Regulation of *Antennapedia* transcript distribution by the bithorax complex in *Drosophila*, Nature, **307**, 287-289.
- Harding K., Rushlow C., Doyle H.J., Hoey T., Levine M. (1986). Cross-regulatory interactions among pair-rule genes in *Drosophila*, Science, **233**, 953-959.
- Harding K., Wedeen C., McGinnis W., Levine M. (1985). Spatially regulated expression of homeotic genes in *Drosophila*, Science, **229**, 1236-1242.
- Hiromi Y., Gehring W.J. (1987). Regulation and function of the *Drosophila* segmentation gene *fushi tarazu*, Cell, **50**, 963-974.
- Holland P.W.H., Hogan B.L.M. (1986). Phylogenetic distribution of *Antennapedia*-like homeoboxes, Nature, **321**, 251-253.
- Howard K., Ingham P. (1986). Regulatory interactions between the segmentation genes *fushi tarazu*, *hairy*, and *engrailed* in the *Drosophila* blastoderm, Cell, **44**, 949-957.
- Ingham P.W., Martinez-Arias A. (1986). The correct activation of *Antennapedia* and bithorax complex genes requires the *fushi tarazu* gene, Nature, **324**, 592-597.
- Ingham P.W., Ish-Horowicz D., Howard K.R. (1986). Correlative changes in homeotic and segmentation gene expression in Krüppel mutant embryos of *Drosophila*, EMBO J., **5**, 1659-1665.
- Jäckle H., Tautz D., Schuh R., Seifert E., Lehmann R. (1986). Cross-regulatory interactions among the gap genes of *Drosophila*, Nature, **324**, 668-670.
- Just E.E. (1939). The Biology of the Cell Surface, Blakiston, Philadelphia.
- Karch F., and 7 others (1985). The abdominal region of the bithorax complex, Cell, **43**, 81-96.
- Kauffman S.A., Shymko R.M., Trabert K. (1978). Control of sequential compartment formation in *Drosophila*, Science, **199**, 259-270.
- Kornberg T., Sidén I., O'Farrell P., Simon M. (1985). The *engrailed* locus of *Drosophila*: In situ localization of transcripts reveals compartment-specific expression, Cell, **40**, 45-53.
- Laughton A., Carroll S.B., Storfer F.A., Riley P.D., Scott M.P. (1985). Common properties of proteins encoded by the *Antennapedia* complex genes of *Drosophila melanogaster*, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **50**, 253-262.
- Lawrence P.A., Morata G. (1976). Compartments in the wing of *Drosophila*: A study of the *engrailed* gene, Dev. Biol., **50**, 321-337.
- Levine M., Frasch M., Hoey T., Harding K. (in press). Homeobox gene expression in *Drosophila*, UCLA Symp. Mol. Cell Biol.
- Levine M., Harding H., Wedeen C., Doyle H., Hoey T., Radomska H. (1985). Expression of the homeobox gene family in *Drosophila*, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **50**, 209-222.
- Lewis E.B. (1985). Regulation of the genes of the bithorax complex in *Drosophila*, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **50**, 155-164.
- Lewis E.B. (1978). A gene complex controlling segmentation in *Drosophila*, Nature, **276**, 565-570.
- MacDonald P.M., Ingham P., Struhl G. (1986). Isolation, structure, and expression of *even-skipped*: A second pair-rule gene of *Drosophila* containing a homeobox, Cell, **47**, 721-734.
- MacDonald P.M., Struhl G. (1986). A molecular gradient in early *Drosophila* embryos and its role in specifying the body pattern, Nature, **324**, 537-545.
- Martinez-Arias A., Lawrence P.A. (1985). Parasegments and compartments in the *Drosophila* embryo, Nature, **313**, 639-642.
- Mayr E. (1982). The Growth of Biological Thought: Diversity, Evolution, and Inheritance, Harvard University Press, Cambridge, MA.
- McGinnis W., Garber R.L., Wirz J., Kuroiwa A., Gehring W.J. (1984). A homologous protein-coding sequence in *Drosophila* homeotic genes and its conservation in other metazoans, Cell, **37**, 403-408.
- Meinhardt H. (1984). Models for positional signaling, the three fold subdivision of segments and the pigmentation pattern of molluscs, J. Embryol. Exp. Morphol., **83** [Suppl.], 289-311.
- Meinhardt H. (1986). Hierarchical inductions of cell states: A model for segmentation in *Drosophila*, J. Cell Sci., **4** [Suppl.], 357-381.
- Müller M.M., Carrasco A.E., deRobertis E.M. (1984). A homeobox-containing gene expressed during oogenesis in *Xenopus*, Cell, **39**, 157-162.
- Morata G., Lawrence P.A. (1977). Homeotic genes control compartments and cell determination in *Drosophila*, Nature, **265**, 211-216.
- Murray J.D. (1981). A pre-pattern formation mechanism for animal coat markings, J. Theoret. Biol., **88**, 161-199.
- Newman S.A., Frisch H.L. (1979). Dynamics of skeletal pattern formation in developing chick limb, Science, **205**, 662-668.
- Nüsslein-Volhard C., Kluding H., Jürgens G. (1985). Genes affecting the segmental subdivision of the *Drosophila* embryo, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **50**, 145-154.
- Nüsslein-Volhard C., Wieschaus E. (1980). Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila*, Nature, **287**, 795-801.
- O'Farrell P.H., and 7 others. (1985). Embryonic pattern in *Drosophila*: The spatial distribution and sequence-specific DNA binding of engrailed protein, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **50**, 235-242.
- Peifer M., Bender W. (1986). The *anterobithorax* and *bithorax* mutations of the bithorax complex, EMBO J., **5**, 2293-2303.
- Peifer M., Karch F., Bender W. (1987). The bithorax complex: Control of segmental identity, Genes Dev., **1**, 891-898.
- Postlethwait J.H., Schneiderman H.A. (1971). Pattern formation and determination in the antenna of the homeotic mutant *Antennapedia* of *Drosophila melanogaster*, Dev. Biol., **25**, 606-640.
- Prigogine I., Nicolis G. (1967). On symmetry-breaking instabilities in dissipative systems, J. Chem. Phys., **46**, 3542-3550.
- Raff R., Kaufman T.C. (1983). Embryos, Genes and Evolution: The Developmental-Genetic Basis of Evolutionary Change, Macmillan, New York.
- Robertson M. (1987). A genetic switch in *Drosophila* morphogenesis, Nature, **327**, 556-557.
- Rosenberg N.B., Schroader C., Preiss A., Krentlin A., Cote S., Ried I., Jäckle H. (1986). Structural homology of the product of the *Drosophila* Krüppel gene with *Xenopus* transcription factor IIIA, Nature, **319**, 336-339.
- Sánchez-Herrero E., Vernós I., Marco R., Morata G. (1985). Genetic organization of *Drosophila* bithorax complex, Nature, **313**, 108-113.
- Schneuwly S., Kuroiwa A., Gehring W.J. (1987). Molecular analysis of the dominant homeotic *Antennapedia* phenotype, EMBO J., **6**, 201-206.

- Scott M. P., Carroll S. B. (1987). The segmentation and homeotic gene network in early *Drosophila* development, *Cell*, **51**, 689–698.
- Scott M. P., O'Farrell P. H. (1986). Spatial programming of gene expression in early *Drosophila* embryogenesis, *Annu. Rev. Cell. Biol.*, **2**, 49–80.
- Scott M. P., Weiner A. J. (1984). Structural relationships among genes that control development: sequence homology between the *Antennapedia*, *Ultrabithorax*, and *fushi tarazu* loci of *Drosophila*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**, 4115–4119.
- Simeone A. and 7 others. (1986). A human homeobox gene specifically expressed in spinal cord during embryonic development, *Nature*, **320**, 763–765.
- Spieler P., Goldschmidt-Clermont M. (1985). La génétique du développement de la mouche, *La Recherche*, **16**, 452–461.
- Struhl G., White R. A. (1985). Regulation of the *Ultrabithorax* gene of *Drosophila* by other bithorax complex genes, *Cell*, **43**, 507–519.
- Turing A. M. (1952). The chemical basis of morphogenesis, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B*, **237**, 37–72.
- Turner R. F., Mahowald A. P. (1977). Scanning electron microscopy *Drosophila melanogaster* embryogenesis, *Dev. Biol.*, **57**, 403–416.
- Waddington C. H. (1940). *Organisms and Genes*, Cambridge University Press, Cambridge.
- Wakimoto B. T., Turner F. R., Kaufman T. C. (1984). Defects in embryogenesis in mutants associated with the *Antennapedia* gene complex of *Drosophila melanogaster*, *Dev. Biol.*, **102**, 147–172.
- Wedeer C., Harding K., Levine M. (1986). Spatial regulation of *Antennapedia* and *bithorax* gene expression by the *Polycomb* locus in *Drosophila*, *Cell*, **44**, 739–748.
- Weir M. P., Lo C. (1982). Gap junction communication compartments in the *Drosophila* wing disc, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 3232–3235.
- Welsh B. J., Gomati J., Burgess A. E. (1983). Three-dimensional chemical waves in the Belousov-Zhabotinski reaction, *Nature*, **304**, 611–614.
- White R. A. H., Lehmann R. (1986). A gap gene *hunchback*, regulates the spatial expression of *Ultrabithorax*, *Cell*, **47**, 311–321.
- Winfree A. T. (1974). Rotating chemical reactions, *Sci. Am.*, **230**(6), 82–95.
- Wolpert L., Hornbruch A. (1987). Position signalling and the development of the humerus in the chick limb bud, *Development*, **100**, 333–338.
- tion of spatial domains of zygotic gene expression in the *Drosophila* embryo by the affinity of binding sites for the *bicoid* morphogen, *Nature*, **340**, 363–367.
- Driever W., Siegal V., Nüsslein-Volhard C. (1990). Autonomous determination of anterior structures in the early *Drosophila* embryo by the *bicoid* morphogen, *Development*, **109**, 811–820.
- French V. (1988). Gradients and insect segmentation. In: V. French, P. Ingham, J. Cooke, J. Smith (eds.), *Mechanisms of Segmentation*, Company of Biologists, Cambridge, pp. 3–16.
- Frigerio G., Burri M., Bopp D., Baumgartner S., Noll M. (1986). Structure of the segmentation gene *paired* and the *Drosophila* PRD gene set as part of a gene network, *Cell*, **47**, 735–746.
- Hülskamp M., Schröder C., Pfeifle C., Jäckle H., Tautz D. (1989). Posterior segmentation of the *Drosophila* embryo in the absence of a maternal posterior organizer gene, *Nature*, **338**, 629–632.
- Irish V., Lehmann R., Akam M. (1989). The *Drosophila* posterior-group gene *nanos* functions by repressing *hunchback* activity, *Nature*, **338**, 646–648.
- Kalthoff K. (1969). Der Einfluss verschiedener Versuchparameter auf die Häufigkeit der Missbildung "Doppelabdomen" in UV-bestrahlten Eiern von *Smittia* sp. (Diptera, Chironomidae), *Zool. Anz. Suppl.*, **33**, 59–65.
- Kalthoff K., Sander K. (1968). Der Entwicklungsgang der Missbildung "Doppelabdomen" im partiell UV-bestrahlten Ei von *Smittia parthenogenetica* (Diptera, Chironomidae), *Wilh. Roux Arch. Entwickl. Org.*, **161**, 129–146.
- Kandler-Singer I., Kalthoff K. (1976). RNase sensitivity of an anterior morphogenetic determinant in an insect egg (*Smittia* sp., Chironomidae, Diptera), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **73**, 3739–3743.
- Klingler M., Erdélyi M., Szabad J., Nüsslein-Volhard C. (1988). Function of *torso* in determining the terminal Anlagen of the *Drosophila* embryo, *Nature*, **335**, 275–277.
- Lehmann R., Nüsslein-Volhard C. (1986). Abdominal segmentation, pole cell formation and embryonic polarity require the localized activity of *oscar*, a maternal gene in *Drosophila*, *Cell*, **47**, 141–152.
- Lehmann R., Nüsslein-Volhard C. (1987). Involvement of the *pumilio* gene in the transport of the abdominal signal in the *Drosophila* embryo, *Nature*, **329**, 167–170.
- Nüsslein-Volhard C., Frohnhofer H. G., Lehmann R. (1987). Determination of anteroposterior polarity in *Drosophila*, *Science*, **238**, 1675–1681.
- Sander K. (1975). Pattern specification in the insect embryo. In: *Cell Patterning*, CIBA Foundation Symp., **29**, 241–263.
- Schüpbach T., Wieschaus E. (1986). Maternal effect mutations altering the anterior-posterior pattern of the *Drosophila* embryo, *Roux Arch. Dev. Biol.*, **195**, 302–317.
- Stevens L. M., Frohnhofer H. G., Klingler M., Nüsslein-Volhard C. (1990). Localized requirement for *torso*-like expression in follicle cells for development of terminal Anlagen of the *Drosophila* embryo, *Nature*, **346**, 660–662.
- Struhl G. (1989). Differing strategies for organizing anterior and posterior body pattern in *Drosophila* embryos, *Nature*, **338**, 741–744.
- Struhl G., Struhl K., Macdonald P. M. (1989). The gradient morphogen *bicoid* is a concentration-dependent transcriptional activator, *Cell*, **57**, 1259–1273.
- Tautz D. (1988). Regulation of the *Drosophila* segmentation gene *hunchback* by two maternal morphogenetic centers, *Nature*, **332**, 281–284.
- Wharton R. P., Struhl G. (1989). Structure of the *Drosophila* BicaudalD protein and its role in localizing the posterior determinants *nanos*, *Cell*, **59**, 881–892.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА К 3-МУ ИЗДАНИЮ

- Anderson K. V. (1989). *Drosophila*. The maternal contribution. In: D. M. Glover, B. D. Hames (eds.), *Genes and Embryos*, IRL, New York, p. 1–37.
- Berleth T. and several others. (1988). The role of localization of *bicoid* RNA in organizing the anterior pattern of the *Drosophila* embryo, *EMBO J.*, **7**, 1749–1756.
- Degehlmann A., Hardy P. A., Perrimon N., Mahowald A. P. (1986). Developmental analysis of the *torso*-like phenotype in *Drosophila* produced by a maternal-effect locus, *Dev. Biol.*, **115**, 479–489.
- Driever W., Nüsslein-Volhard C. (1988a). A gradient of *bicoid* protein in *Drosophila* embryos, *Cell*, **54**, 83–93.
- Driever W., Nüsslein-Volhard C. (1988b). The *bicoid* protein determines position in the *Drosophila* embryo in a concentration-dependent manner, *Cell*, **54**, 95–104.
- Driever W., Nüsslein-Volhard C. (1989). The *bicoid* protein in a positive regulator of *hunchback* transcription in the early *Drosophila* embryo, *Nature*, **337**, 138–143.
- Driever W., Thoma G., Nüsslein-Volhard C. (1989). Determina-

Глава 19

Клеточные взаимодействия на расстоянии Гормоны как медиаторы развития

Изменяясь, старый порядок уступает место новому.

АЛФРЕД ЛОРД ТЕННИСОН (1886)

На ранних, «приземленных» стадиях развития они приобрели громадные пищеварительные тракты и владели существованием гусениц. Впоследствии при создании совершенно нового организма — летающей машины, преданной одной цели — размножению, эти их приобретения могли быть ликвидированы и заменены иными.

КЭРРОЛЛ М. УИЛЬЯМС (1958)

Введение

Формирование органов у животных осуществляется путем взаимодействия многих типов разнообразно дифференцированных клеток. В четырех предшествующих главах были рассмотрены ближние клеточные взаимодействия. Эта глава будет посвящена проблемам регуляции развития с помощью растворимых молекул, путешествующих на дальние расстояния от клеток одного типа к клеткам другого. Такие диффундирующие регуляторы развития, способные изменять дифференцировку или морфогенез других тканей, называются **гормонами**.

Метаморфоз.

Гормональная реактивация развития

Поскольку гормоны способны оказывать свое действие в очень малых дозах, выделить их из зародышей чрезвычайно сложно. Поэтому наиболее корректный способ изучения гормонального контроля связан с регуляцией одного из типов развития — развития с **метаморфозом**.

Животные многих видов в своем развитии проходят личиночную стадию, которая весьма значительно отличается от взрослого организма. Очень часто личиночные формы специализированы для выполнения определенных функций, таких, как рост или расселение. Например, плутеус — личинка морского ежа — переносится на различные расстояния морскими течениями, тогда как взрослый морской еж ведет практически неподвижный образ жизни. Гусеницы

бабочек специализированы для питания, а взрослые формы приспособлены для полета и размножения и часто лишены ротовых частей, необходимых для потребления пищи. Разделение функций между личинкой и взрослым животным в ряде случаев оказывается исключительно четким (Wald, 1981). Личинки поденок, вылупившиеся из яиц, развиваются несколько месяцев, а полностью сформированные крылатые насекомые живут всего лишь один день, в течение которого они должны спариться, прежде чем погибнут.

Как и следует ожидать, личинки и взрослые животные часто населяют различные местообитания, следовательно и действие на них естественного отбора также различно. Взрослая бабочка вице-король имитирует несъедобную бабочку-данаиду, но ее гусеница совершенно не похожа на красивую гусеницу данаид, — она скорее напоминает птичий помет (Begon et al., 1986).

Реактивация процессов развития при метаморфозе обуславливается специфическими гормонами, при этом изменяется весь организм, переходя к новому способу существования. Эти изменения затрагивают не только форму. Так, у головастиков амфибий во время метаморфоза происходит созревание печеночных ферментов, гемоглобина, зрительных пигментов, а также перестройка нервной, пищеварительной и репродуктивной систем. Таким образом, метаморфоз — это период драматических событий в развитии, захватывающих весь организм.

В этой главе мы сосредоточим внимание на трех примерах реактивации развития под действием гормонов—это метаморфоз у амфибий, метаморфоз у насекомых и развитие молочной железы у мыши.

Метаморфоз у амфибий

Феномен метаморфоза у амфибий

У амфибий метаморфоз обычно связан с изменениями, обуславливающими переход водного организма к жизни на суше. У хвостатых амфибий эти изменения включают резорбцию хвостового плавника, наружных жабр и изменения в строении кожи. Метаморфоз бесхвостых амфибий (лягушек и жаб) более значителен—изменения затрагивают почти каждый орган животного (табл. 19.1). Особенно наглядны изменения формы (рис. 19.1). Регрессии подвергаются не только хвост головастика и его наружные жабры, но и роговые зубы. В то же самое время развиваются конечности и кожные железы. Пока дифференцируются передние и задние конечности, локомоция осуществляется с помощью хвостового плавника. Роговые зубы, которыми головастики соскабливают растительные обрастания подводных предметов, исчезают по мере того как рот и челюсти приобретают новую форму и развиваются мышцы языка. Тем временем удлинненный пищеварительный тракт травоядного головастика укорачивается в соответствии с рационом плотоядной взрослой лягушки. Исчезают жабры и подвергаются регрессии жаберные дуги. Увеличиваются легкие, развиваются мышцы и хрящевые структуры, обеспечивающие нагнетание воздуха в легкие и изгнание его из легких. Изменяются органы чувств—система боковой линии

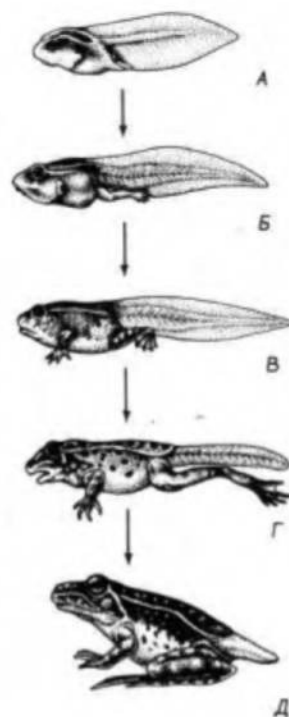


Рис. 19.1. Последовательность событий при метаморфозе лягушки *Rana pipiens*. А. Преметаморфный головастик. Б. Прометаморфный головастик; заметен рост задних конечностей. В. С появлением передних конечностей метаморфоз вступает в решающую стадию (климакс). Г, Д. Климаксные стадии.

головастика исчезает, но прогрессирует дифференцировка глаз и органа слуха. Развивается среднее ухо и барабанная перепонка, столь характерная для

Таблица 19.1. Основные изменения, происходящие в процессе метаморфоза у бесхвостых амфибий

Система органов	Личинка	Взрослое животное
Локомоторная	Водная; хвостовые плавники	Наземное; бесхвостое четвероногое
Дыхательная	Жабры, кожа, легкие; личиночные гемоглобины	Кожа, легкие; гемоглобины взрослого животного
Кровеносная	Дуги аорты; аорта; передняя, задняя и общая кардинальные (кьюверов проток) вены	Каротидная дуга; системная дуга; яремные вены
Пищеварительная	Вегетарианская: длинный спиральный кишечник, кишечные симбионты; небольшой рот, роговые челюсти, губные зубы	Плотоядная: короткий кишечник, протеазы; большой рот, длинный язык
Нервная, органы чувств	Отсутствие мигательной перепонки, порфиросин; система органов боковой линии и нейроны Маутнера	Развитие глазных мышц, мигательная перепонка, родопсин, утрата системы органов боковой линии и дегенерация нейронов Маутнера; барабанная перепонка
Выделительная	Мезонефрос; главным образом аммиак, немного мочевины (аммониотелия)	Мезонефрос; главным образом мочевины, высокая активность ферментов цикла орнитин-мочевины (уротелия)

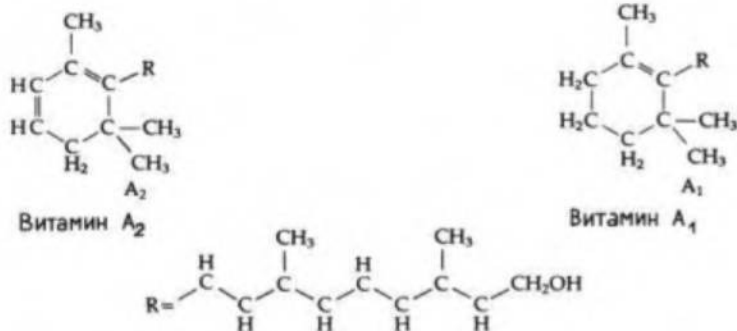


Рис. 19.2. Структурные формулы участков зрительных пигментов головастика и лягушки, представленных витамином А. Порфиросин головастика (в его состав входит витамин A₂) поглощает свет с большей длиной волны, чем родопсин лягушки (в его состав входит витамин A₁).

лягушек и жаб. В глазу возникает мигательная перепонка и веки. Кроме того, изменяется зрительный пигмент. У головастика, как и у пресноводных рыб, основным фотопигментом сетчатки является **порфиросин** — комплекс белка опсина с альдегидом витамина A₂ (рис. 19.2). У взрослых лягушек этот пигмент сменяется **родопсином** — фотопигментом наземных и морских позвоночных. Родопсин представляет собой опсин, связанный с альдегидом витамина A₁ (Wald, 1945, 1981; Smith-Gill, Carver, 1981).

С метаморфозом связаны и другие биохимические процессы. Так, гемоглобин головастика присоединяет кислород быстрее и высвобождает его более медленно, чем гемоглобин взрослых животных (McCutcheon, 1936). Кроме того, Риггс (Riggs, 1951) показал, что связывание кислорода гемоглобином головастика не зависит от pH, тогда как гемоглобин лягушки (как и большинство гемоглобинов других позвоночных) интенсивнее связывается с кислородом по мере повышения pH (эффект Бора). Наиболее впечатляющим событием метаморфоза на биохимическом уровне является, по-видимому, индукция ферментов, необходимых для образования мочи. Головастики, как и большинство пресноводных рыб, относятся к **аммонотелеским**, т. е. выделяющим аммиак, животным. Однако взрослые лягушки, как и большинство наземных позвоночных, относятся к **уротелеским**, т. е. выделяющим мочевину, животным. Во время метаморфоза в печени синтезируются ферменты, необходимые для образования мочевины из двуокиси углерода и аммиака: эти ферменты обеспечивают **цикл мочевины** (рис. 19.3).

Гормональный контроль метаморфоза у амфибий

Все разнообразные изменения, связанные с метаморфозом, вызываются секрецией гормонов **тироксина** (T₄) и **трийодтиронина** (T₃) щитовидной железой во время метаморфоза (рис. 19.4). Сейчас принято считать, что активным гормоном служит T₃, поскольку он стимулирует метаморфозные изменения

у тиреоидэктомированных животных в гораздо меньших концентрациях, чем T₄ (Kistler et al., 1977; Robinson et al., 1977). Оба гормона в небольших количествах продуцируются щитовидной железой личинок как хвостатых, так и бесхвостых амфибий, но их действие уравнивается секрецией гормона **пролактина** передней долей гипофиза. Пролактин выполняет функцию личиночного гормона роста и ингибирует метаморфоз (Etkin, Gona, 1967; Bern et al., 1967). В ходе метаморфоза концентрация тиреоидных гормонов T₃ и T₄ возрастает, заставляя головастика превращаться в лягушку, а личинок хвостатых амфибий становиться сухопутными. В онтогенезе хвостатых амфибий тироксин начинает превалировать над пролактином позже, вынуждая их во взрослом состоянии возвращаться в воду для выметывания половых продуктов (Grant, Grant, 1958). Таким образом, некоторые хвостатые амфибии претерпевают два метаморфоза: один стимулируется тироксином, другой — пролактином. Более того, даже после второго метаморфоза инъекция тироксина может заставить взрослого тритона вернуться на сушу в качестве сухопутной формы (Grant, Cooper, 1964).

О том, что метаморфоз контролируется гормонами щитовидной железы, было известно еще в начале века (Gudernatsch, 1912): при добавлении в корм головастика порошкообразной щитовидной железы овцы наступление метаморфоза у них ускорялось. Аллен (Allen, 1916), а также Хоскинс и Хоскинс (Hoskins, Hoskins, 1917) обнаружили, что удаление у ранних головастика зачатка щитовидной железы приводит к росту гигантских головастика, которые так и не приступают к метаморфозу.

Выделение T₃ осуществляется под контролем гипоталамического отдела головного мозга (Etkin, 1968). В процессе личиночного роста (преметаморфоза) эта часть мозга отстает в развитии, следовательно степень контроля мозга над передней долей гипофиза невелика (рис. 19.5). В отсутствие гипоталамической регуляции уровень секреции пролактина оказывается высоким, а уровень секреции гипофизом **тиреотропного гормона** (ТТГ) — низким. Таким образом,

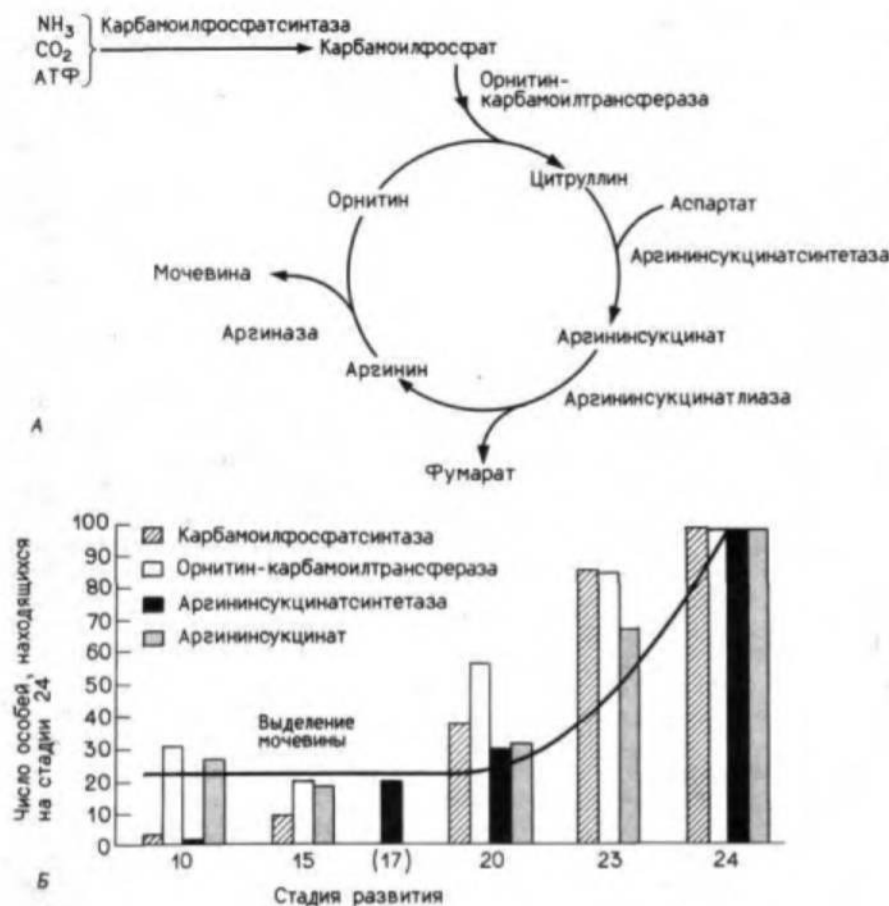


Рис. 19.3. Становление цикла мочевины в ходе метаморфоза у бесхвостых амфибий. **А.** Основные вехи цикла мочевины, служащего для обезвреживания и выведения азотсодержащих шлаков. **Б.** Проявление активности ферментов цикла мочевины на разных стадиях метаморфоза лягушки *Rana catesbeiana*. Светлосерыми столбцами на диаграмме обозначена аргининсукцинатлиаза. (По Cohen, 1970.)

уровень T_3 низок, а уровень пролактина высок. По мере развития гипоталамуса секреция **рилизинг-фактора тиреотропного гормона (РФ-ТТГ)** стимулирует повышение уровня ТТГ. Последний обуславливает повышение синтеза T_3 и тироксина в щитовидной железе. Повышающаяся концентрация T_3 , который выделяется из щитовидной железы, вызывает появление первых признаков метаморфоза (**прометаморфоз**). В это время начинается рост почек конечностей. Кроме того, повышение уровня T_3 стимулирует дальнейшее развитие средней доли гипофиза, что дает возможность РФ-ТТГ поступать в его переднюю долю, вследствие чего устанавливается положительная обратная связь: увеличение концент-

рации T_3 стимулирует его дальнейшее накопление. В гипоталамусе начинается синтез еще одного активного фактора, вероятно, дофамина (White, Nicoll, 1981), ингибирующего гипофизарный синтез пролактина. В результате соотношение T_3 и пролактина возрастает до предела, при котором метаморфоз вступает в свою критическую фазу (**метаморфозный климакс**), во время которой и происходят его основные события. Одно из следствий метаморфоза – частичная дегенерация щитовидной железы. Кроме того, не исключено, что высокий уровень T_3 ингибирует продукцию ТТГ или РФ-ТТГ (Goos, 1978). Таким образом, необходимо установление нового гормонального баланса.

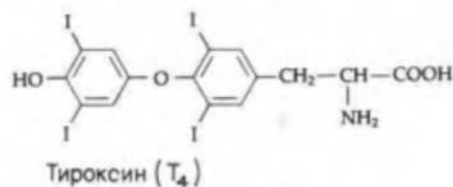
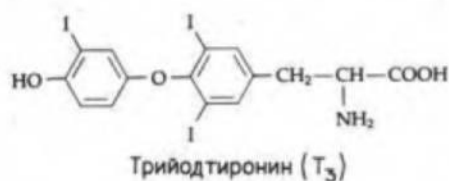


Рис. 19.4. Формулы тироксина (T_4) и трийодтиронина (T_3).

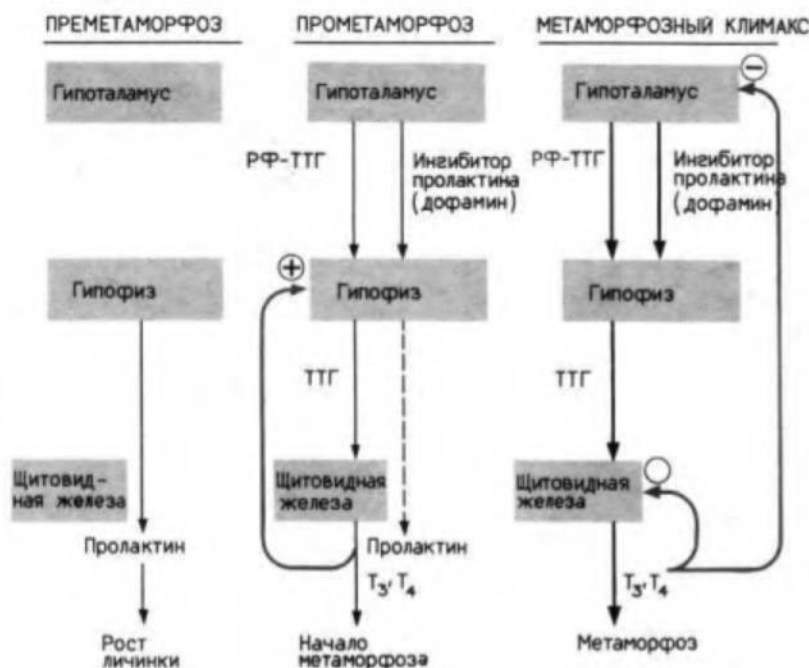


Рис. 19.5. Функциональные связи между гипоталамусом, гипофизом и щитовидной железой на разных стадиях метаморфоза бесхвостых амфибий. По мере своего развития гипоталамус стимулирует гипофиз к активации щитовидной железы, секретирующей тироксин, и ингибированию секреции пролактина. T_3 – трийодтиронин; T_4 – тироксин; ТТГ – тиреотропный гормон; РФ-ТТГ – релизинг-фактор тиреотропного гормона.

Реакция разных органов тела на гормональные воздействия различна. Один и тот же стимул может привести к регрессии одних тканей и развитию и дифференцировке других. Так, резорбция хвоста находится в явной зависимости от повышения уровня тиреоидных гормонов. Эту корреляцию можно продемонстрировать *in vitro* (Weber, 1967): изолированные хвосты помещают в чашку с агаром и подвергают различным химическим воздействиям (рис. 19.6). Хвосты растут в нормальной среде, но при добавлении тиреоидных гормонов претерпевают регрессию. Более того, пролактин ингибирует регрессию хвоста, вызванную тиреоидными гормонами (Brown, Frye, 1969). Регрессия хвоста происходит в четыре этапа. Сначала в поперечнополосатых мышечных клетках хвоста снижается уровень синтеза белка (Little et al., 1973). Затем повышается содержание лизосомных ферментов. Увеличивается концентрация катепсина D (протеазы), РНКазы, ДНКазы, коллагеназы, фосфатазы, гликозидазы в эпидермисе, хорде и в клетках нервного ствола (Fox, 1973). Выход этих ферментов в цитоплазму, очевидно, обуславливает гибель клеток. Перевариванию мышечных тканей способствует эпидермис, по-видимому секретирующий эти ферменты. Если удалить эпидермис с кончиков хвоста хирургическим путем, то они не будут подвергаться регрессии в присутствии тироксина в культуральной среде (Eisen, Gross, 1965; Niki et al., 1982). Гибель клеток в области хвоста сопровождается скоплением макрофагов, которые переваривают дебрис с помощью своих протеолитических ферментов (Kalten-

bach et al., 1979). В результате хвост превращается в обширное вместилище последних (рис. 19.7).

Определенная реакция ткани на тиреоидные гормоны – свойство данной ткани, не зависящее от ее окружения. Об этом свидетельствуют эксперименты по трансплантации диотальных фрагментов хвоста в область туловища или глазных чаш в ткань хвоста (Schwind, 1933; Geigy, 1941). Дополнительный кончик хвоста, пересаженный в область туловища, не защищен от регрессии, а глаз сохраняет свою целостность, несмотря на имплантацию в дегенерирующий хвост (рис. 19.8). Следовательно, хвост представляет собой пример запрограммированной гибели клеток. Реакция ткани на данный сигнал специфична. Запрограммированная гибель клеток играет важную роль в морфогенезе. Например, у человека такая гибель наблюдается в тканях между большим и указательным пальцами, а дегенерацию хвоста у него на четвертой неделе развития можно уподобить регрессии хвоста у головастика (Fallon, Simandl, 1978).

Одна из важнейших проблем метаморфоза – это координация его событий. Хвост не должен дегенерировать раньше, чем разовьются другие локомоторные органы – конечности; жабры не должны подвергнуться регрессии до того, как разовьются мышцы легких. В основе этой координации, по всей вероятности, лежат количественные различия между гормонами, стимулирующими то или иное специфическое событие (Kollros, 1961). Эта модель известна под названием **концепции порога**. По мере повышения концентрации тиреоидных гормонов происходит

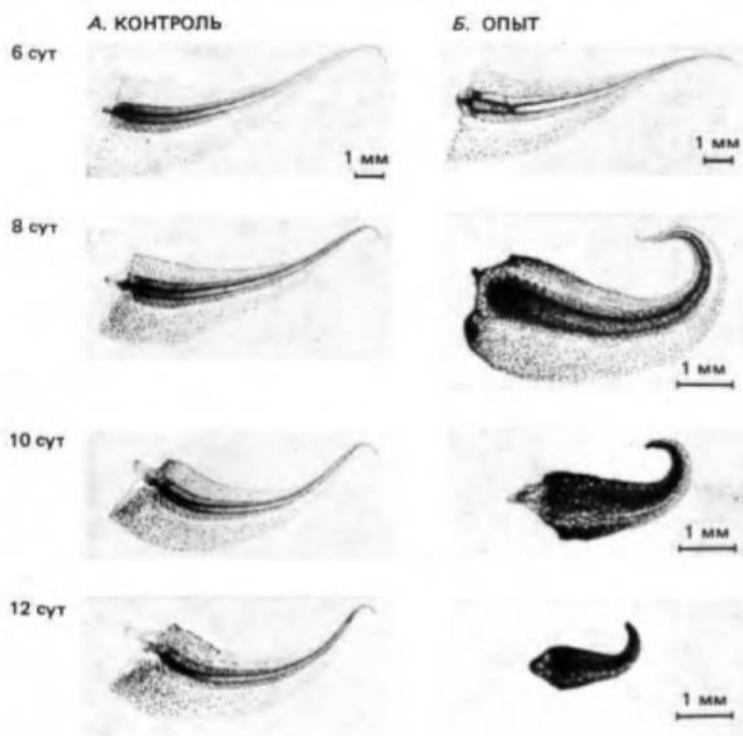


Рис. 19.6. Регрессия изолированных кончиков хвоста под действием тироксина. А. Контрольные кончики хвостов головастика *Xenopus*, культивированные в растворе Гольфрейтера в течение 6, 8, 10 и 12 сут. Б. Кончики хвостов от головастика того же возраста, что и контрольные, но после культивирования в среде с тироксином. (Из Weber, 1965.)

дифференциальное осуществление тех или иных процессов. У головастика с удаленной щитовидной железой, но культивируемых в разбавленном растворе тиреоидных гормонов, единственный морфогенетический эффект сводится к укорачиванию пищеварительного тракта и ускорению роста зачатков конечностей. Однако при повышении концентрации тирео-

идных гормонов можно наблюдать регрессию хвоста до формирования почек конечностей. Результаты экспериментов позволяют предположить, что рост концентрации тиреоидного гормона сначала вызывает развитие почек задних конечностей, а затем регрессию хвоста. Следовательно, временные параметры морфогенеза определяются компетенцией различных

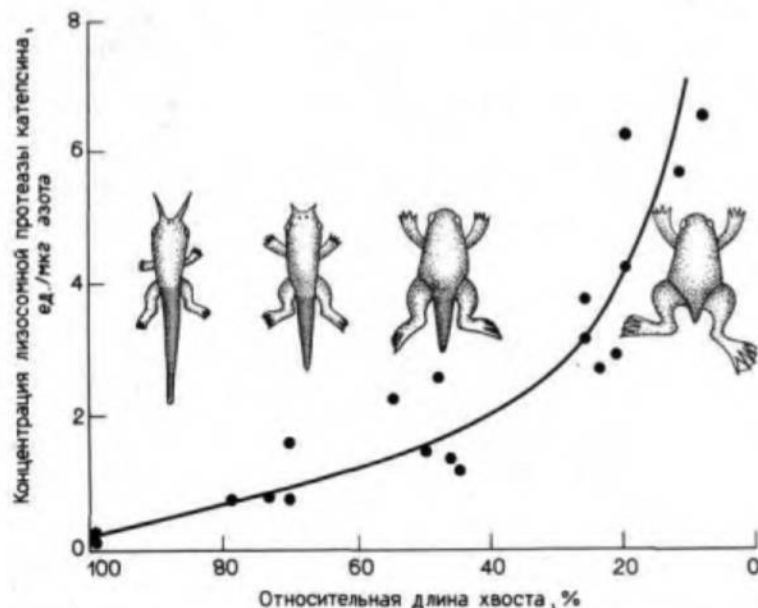


Рис. 19.7. Повышение концентрации лизосомной протеазы катепсина при регрессии хвоста у *Xenopus laevis*. Полагают, что ферменты лизосом ответственны за деградацию клеток хвоста. (По Karp, Berrill, 1981.)

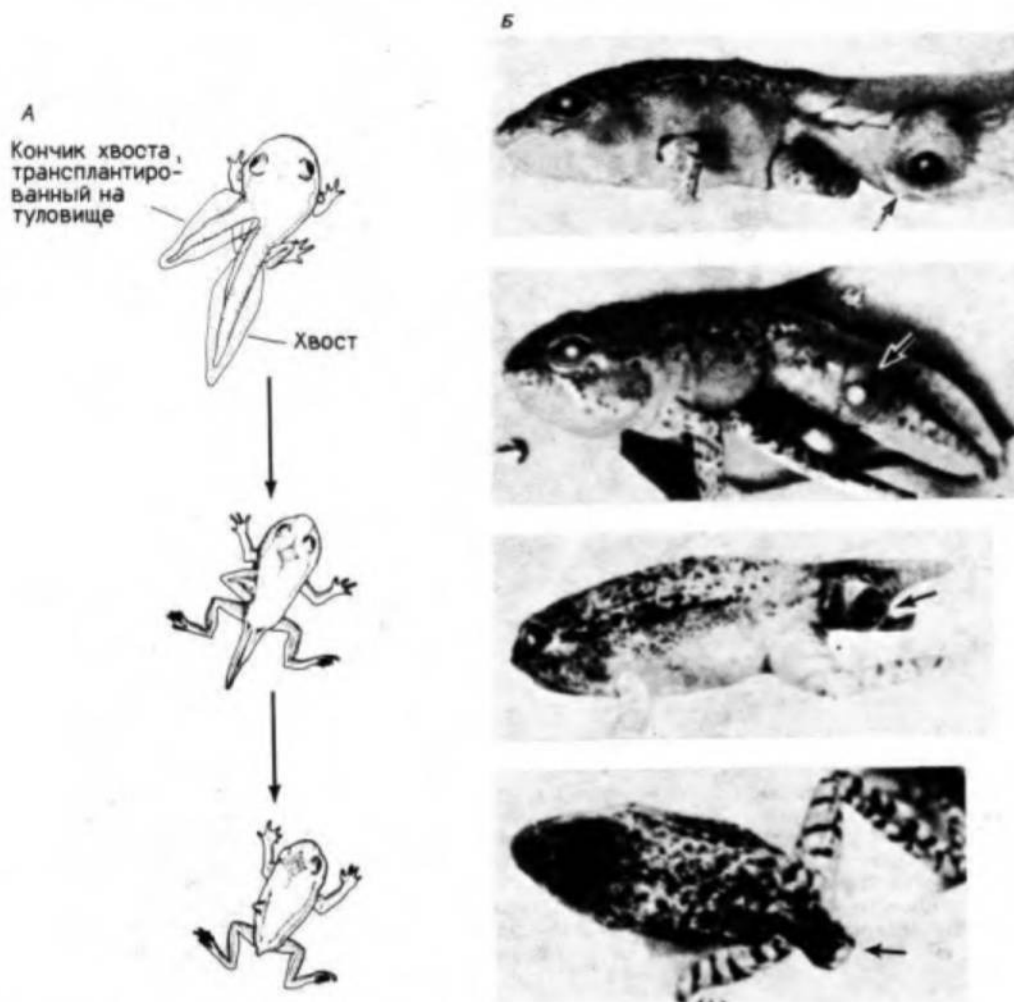


Рис. 19.8. Органная специфичность при метаморфозе лягушки. А. Кончики хвоста подвергаются регрессии, даже если трансплантируют в область туловища, тогда как (Б) глазные чаши (отмечены стрелкой), трансплантированные в область регрессирующего хвоста, остаются интактными. (По Schwind, 1933; фотографии с любезного разрешения Geigy, 1941.)

тканей реагировать на тиреоидные гормоны.

Но что происходит с нервной системой животного, когда на основе старого организма возникает новый? Безусловно, адаптационные анатомические признаки лягушки отличаются от таковых головастика. Одно из характерных явлений при метаморфозе амфибий — это перемещение глаз из положения по бокам головы вперед и вверх¹ (рис. 19.9). Боковое положение глаз головастика типично для травоядных животных, служащих добычей хищникам; распо-

ложенные же фронтально глаза лягушки отвечают требованиям хищного образа жизни. Чтобы поймать свою жертву, лягушка должна видеть в трех измерениях. Иначе говоря, ей необходимо бинокулярное зрение, при котором проводящие пути от обоих глаз сходятся в мозге. У головастика правый глаз иннервируется левой стороной мозга, и наоборот; ипсилатеральные (на одной и той же стороне) отростки нейронов сетчатки отсутствуют. Однако в процессе метаморфоза эти дополнительные ипсилатеральные отростки возникают, вследствие чего проводящие пути от обоих глаз могут достигать одного и того же отдела мозга (Currie, Cowan, 1974; Hoskins, Grobstein, 1985a). У *Xenopus* эти новые нервные пути идут не от существующих преобразованных нейронов, а от новообразованных, дифференцированных в ответ на тиреоидные гормоны (Hoskins, Grobstein, 1985a, b).

¹ Еще более эффектно смещение глаз в ходе метаморфоза у плоских рыб, например у камбалы. Сначала глаза у нее расположены по бокам головы, затем по мере развития один глаз начинает мигрировать дорсально и встречается с другим в верхней части головы, что позволяет рыбе, ведя донный образ жизни, смотреть вверх (Martin, Drewry, 1978).

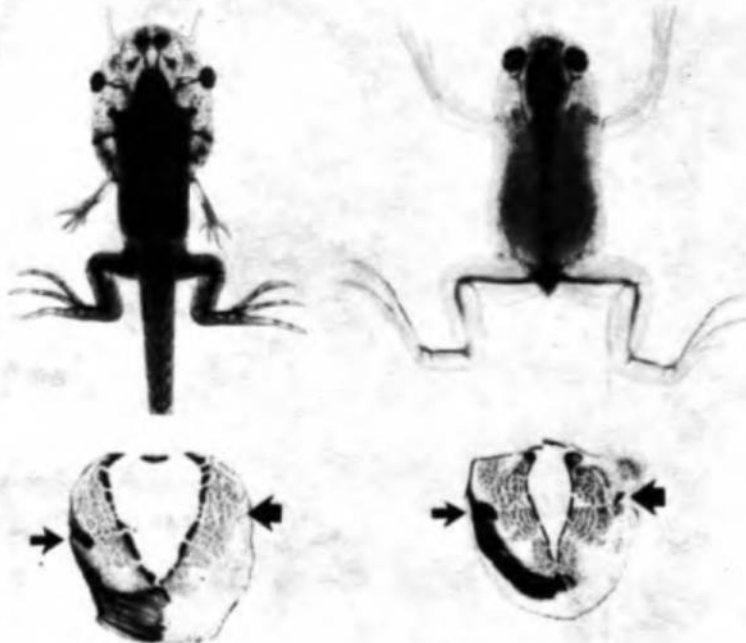


Рис. 19.9. Миграция глаз и связанные с ней изменения в нервной системе при метаморфозе головастика *Xenopus laevis*. Глаза у головастика расположены по бокам головы, поэтому у него создается относительно небольшое поле бинокулярного зрения. В ходе метаморфоза глаза перемещаются в дорсальном и ростральном направлениях, обеспечивая увеличенное поле бинокулярного зрения лягушки. Ниже изображений метаморфозирующих головастиков показаны срезы через зрительную область мозга. По зрительным нейронам пероксидаза хрена перемещается на контралатеральную (противоположающую) сторону мозга (маленькая стрелка), но не попадает на ипсилатеральную. По мере того как метаморфоз прогрессирует, становятся видны и ипсилатеральные отростки, связанные с бинокулярным зрением (большая стрелка). (Из Hoskins, Grobstein, 1984; фотографии с любезного разрешения Р. Grobstein.)

Оба процесса — как смещение глаз, так и дифференцировка новых нейронов, посылающих отростки ипсилатерально, — гормонально регулируемые процессы.

Другие нейроны также подвергаются фундаментальным изменениям. Некоторые нервные клетки, например клетки, иннервирующие мышцы хвоста головастика, погибают (Forehand, Farel, 1982). Полагают, что причиной гибели этих нейронов служит не разрушение окружающей ткани, а их непосредственная реакция на действие тиреоидных гормонов. Другие нейроны, например некоторые двигательные нейроны челюсти головастика, переключаются с иннервирования личиночной мускулатуры на иннервирование соответствующей взрослой (Alley, Barnes, 1983). Ряд нейронов, например нейроны, иннервирующие язык (новообразования мышц у личинки не наблюдаются), остаются покоящимися на стадии головастика и начинают формировать связи только при метаморфозе (Grobstein, 1987). Мозг также подвергается изменениям во время метаморфоза. Таким образом, нервная система у бесхвостых амфибий

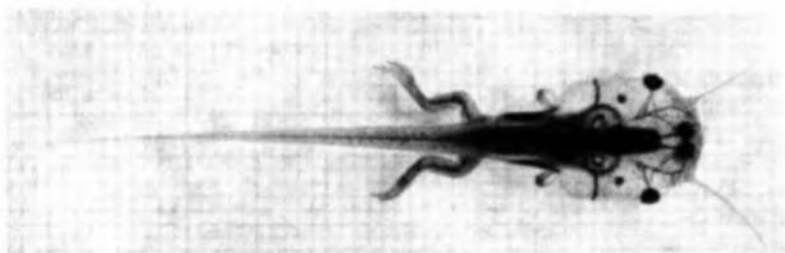
в процессе метаморфоза подвергается естественной реконструкции. Одни нейроны гибнут, другие образуются, третьи меняют свою специфичность. Так организм адаптируется к новым условиям обитания.

Молекулярный механизм ответа на тиреоидные гормоны при метаморфозе

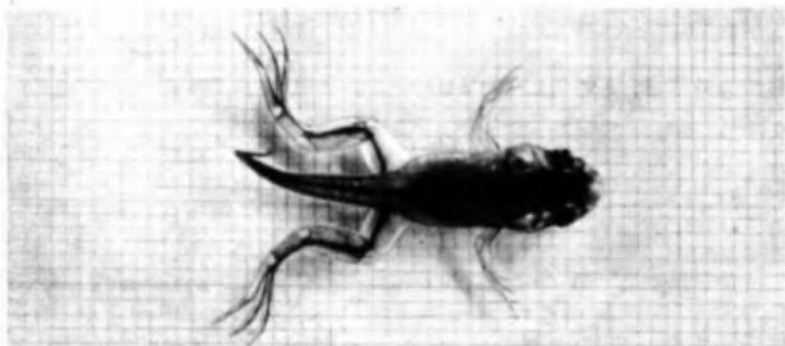
Тиреоидные гормоны могут вызывать разрушение существующей ткани или изменение ее функций в соответствии с переходом к взрослому состоянию. Так, клетки печени головастика при метаморфозе не разрушаются и не замещаются новыми, однако строение существующих печеночных клеток изменяется. Эти изменения сопровождаются значительным возрастанием синтеза рРНК, мРНК, а скорость синтеза белка после стимуляции тиреоидным гормоном в течение 4 ч возрастает почти в 100 раз (Cohen et al., 1978). Многие из новосинтезированных мРНК понадобятся для кодирования функций печени у взрослой лягушки.



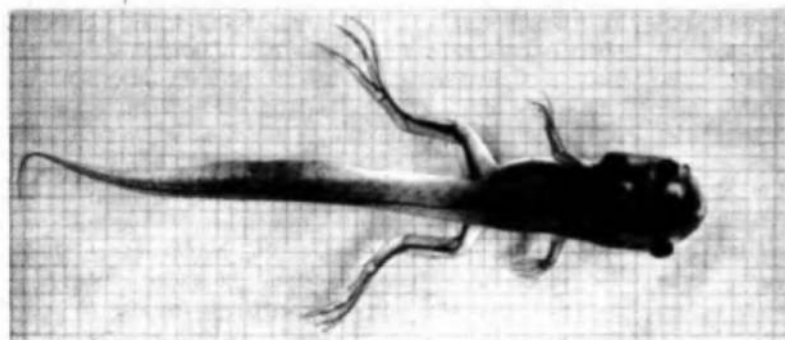
Рис. 19.10. Молекулярный синтез в клетках печени *Rana catesbeiana* после воздействия на головастиков трийодтиронином. Сначала наблюдается увеличение синтеза ядерной, затем цитоплазматической РНК, а после этого возрастает синтез специфических белков печени, связанных главным образом с циклом мочевины. (Из Graham, Wareing, 1976.)



А



Б



В

Рис. 19.11. Роль новой транскрипции во время метаморфоза. А. Головастик *Xenopus laevis* в начале метаморфозного климакса. Б. Нормальный головастик 7 сут спустя. В. Головастик на той же стадии развития, что и на рис. Б, но после инъекции одной дозы актиномицина D, которая была сделана головастику, находящемуся на той же стадии развития, что и головастик А. (Из Weber, 1967.)

Повышение уровня синтеза белка связано с транскрипцией новых мРНК. Рис. 19.10 иллюстрирует синтез карбамоилфосфатсинтазы (фермента цикла мочевины), активирующейся после резкого повышения синтеза РНК; Уэбер (Weber, 1967) показал, что инъекция актиномицина D нормальным головастикам перед началом метаморфоза ингибирует регрессию хвоста и реконструкцию головы (рис. 19.11). Эксперименты по гибридизации радиоактивной мРНК прометаморфозных головастиков лягушки-быка и головастиков, приступивших к метаморфозу, с клонированными генами (методом блоттинга), выявили три типа ответов на действие тиреоидных гормонов. Один набор генов реагирует на естественный или индуцированный тироксином метаморфоз повышением своего до тех пор низкого уровня транскрипции. Уровень транскрипции другого набора генов снижается, а на третий набор тиреоидные гормоны не действуют (Lyman, White, 1987; Mathison, Miller, 1987). Мори и др. (Mori et al., 1979) показали, что увеличение уровня карбамоилфосфатсинтазы можно объяснить повышением уровня транскрипции соответствующего гена. Следовательно, метаморфоз в определенной степени контролируется на уровне транскрипции. О способности тиреоидных гормонов регулировать активность генов на уровне транскрипции свидетельствуют и другие эксперименты. У млекопитающих выделены T_3 -связывающие белки, которые оказались гомологичными стероидсвязываю-

щим белкам, выполняющим функцию переноса стероидов к ДНК. В самом деле, эти T_3 -связывающие белки содержат области, связывающуюся со специфической ДНК, обнаруженной в промоторных участках некоторых генов, ответственных за синтез T_3 (Weinberger et al., 1986; Crew, Spindler, 1986). Это не означает, что регуляция генов, работающих во время метаморфоза, осуществляется только на уровне транскрипции, но, несомненно, этот аспект очень важен¹.

¹ Как известно, небольшие молекулы гормонов (например, тироксина или половых стероидов) способны проникать через плазматическую мембрану и связываться со специфическими внутриклеточными рецепторами. Пептидные же гормоны обычно остаются снаружи и осуществляют свою функцию посредством связывания со специфическим рецептором на плазматической мембране. Комплекс пептидного гормона с рецептором часто активирует связанный с мембраной фермент аденилатциклазу, превращающую АТФ в циклический АМФ (цАМФ), а цАМФ может изменить тип синтезируемого клеткой белка. Например, РФ-ТТГ гипоталамуса осуществляет свою функцию посредством связывания с РФ-ТТГ-рецептором на поверхности клеток гипофиза, синтезирующих ТТГ. Связывание стимулирует клеточную аденилатциклазу к образованию больших количеств цАМФ, который, действуя как «второй посредник», вызывает (пока неизвестным способом) синтез и выделение клеткой ТТГ. Полагают, что действие ТТГ на клетки щитовидной железы также опосредовано цАМФ.

Дополнительные сведения и гипотезы

Гетерохрония

Животные большинства видов проходят в своем развитии стадию личинки. Часто эта стадия оказывается высокоспециализированной, позволяющей находить и переваривать специальные типы пищи и переживать особые условия среды обитания.

В некоторых случаях в результате значительного удлинения или укорачивания личиночного периода происходит изменение жизненного цикла. Явление изменения относительного времени появления и скорости развития признаков, которыми обладали предки данных животных, называют **гетерохронией**. Здесь мы коснемся трех крайних типов гетерохроний: **неотении**, при которой личиночная форма сохраняется на протяжении всего жизненного цикла индивидуума, хотя при этом гонады созревают; **прогенеза**, при котором гонады созревают, но организм продолжает оставаться ювенильным, и **прямого развития**, при котором стадия личинки полностью утрачивается и зародыш преобразуется в маленький организм, по своему виду напоминающий взрослый.

Неотения

У многих хвостатых амфибий личиночная форма может сохраняться в течение всей жизни и достигать половой зрелости, не приступив к метаморфозу. В этом случае гетерохрония заключается в ускорении развития репродуктивной системы (и половых клеток) по сравнению с остальными системами и органами. Сохранение ювенильных признаков у половозрелых особей называется **неотенией**. Скорость выраженности метаморфоза варьирует у разных видов. Мексиканский аксолотль (*Ambystoma mexicanum*) вообще не приступает к метаморфозу в природных условиях, так как у него не синтезируется ТТГ, стимулирующий функционирование щитовидной железы (Pralhad, DeLanney, 1965; Norris et al., 1973; Taurog et al., 1974). Однако после воздействия тиреоидным гормоном или ТТГ этот неотенический аксолотль превращается во взрослую форму, которая не



Рис. 19.12. Индукция метаморфоза у аксолотля. А. Нормальный аксолотль. Б. Особь после воздействия тироксином, индуцирующим метаморфоз. (Из Malacinski, 1978.)

встречается в природе (Huxley, 1920). Другие виды, например *Ambystoma tigrinum*, приступают к метаморфозу только после сигнала из окружающей среды, в противном случае они остаются неотеническими, с успехом размножаясь в этом состоянии. Так, *A. tigrinum* — неотеническая саламандра, обитающая в холодных озерах Скалистых гор, — в более теплой зоне своего ареала после личиночной стадии превращается в сухопутную тигровую саламандру. У неотенической популяции Скалистых гор метаморфоз можно индуцировать, просто поместив животных в воду с более высокой температурой. По-видимому, у этого вида при низких температурах гипоталамус не образует РФ-ТТГ.

Некоторые хвостатые амфибии, однако, и в лабораторных условиях продолжают оставаться неотеническими. Наряду с *A. mexicanum*, у которой воздействием тироксина можно получить взрослую форму (рис. 19.12), существуют неотенические виды *Necturus* и *Siren*, не реагирующие на тиреоидные гормоны. Вероятно, их ткани-мишени утратили способность отвечать на это воздействие и неотения стала постоянной (Frieden, 1981). Генетические дефекты, ответственные на неотению у некоторых видов, представлены на рис. 19.13.

Де Бир (De Beer, 1940) и Гулд (Gould, 1977) высказывали гипотезы, согласно которым неотения служит важным фактором эволюции более сложных таксонов. Запаздывание развития соматических тканей обеспечивает большую пластичность материала

для естественного отбора. По мнению Гулда, неотения «дает возможность избежать специализации. Отказываясь от своих высокоспециализированных взрослых форм, животные возвращаются к лабильному состоянию, свойственному ранним стадиям онтогенеза, и таким образом готовят себя к эволюции в новых направлениях».

Прогенез

Сохранение ювенильной формы взрослым потомством может быть достигнуто двумя путями. При неотении развитие большинства соматических тканей задерживается, хотя гонады развиваются с нормальной скоростью. В случае прогенеза ускоряется созревание гонад, а остальные органы до определенной стадии развиваются нормально. Прогенез дает возможность некоторым видам хвостатых амфибий занять новые экологические ниши. Листовая саламандра (*Bolitoglossa occidentalis*), обитающая в тропиках, в отличие от других представителей рода живет на деревьях. Она имеет небольшие размеры и перепончатые конечности, которые использует как прыжки при перемещении по деревьям; незначительный вес тела делает такой способ передвижения более эффективным. Было обнаружено (Alberch, Alberch, 1981), что листовая саламандра очень напоминает ювенильные формы родственных видов — светлоспинной саламандры (*B. subpalmata*) и высокогорной саламандры (*B. rostrata*) (молодь которых характери-

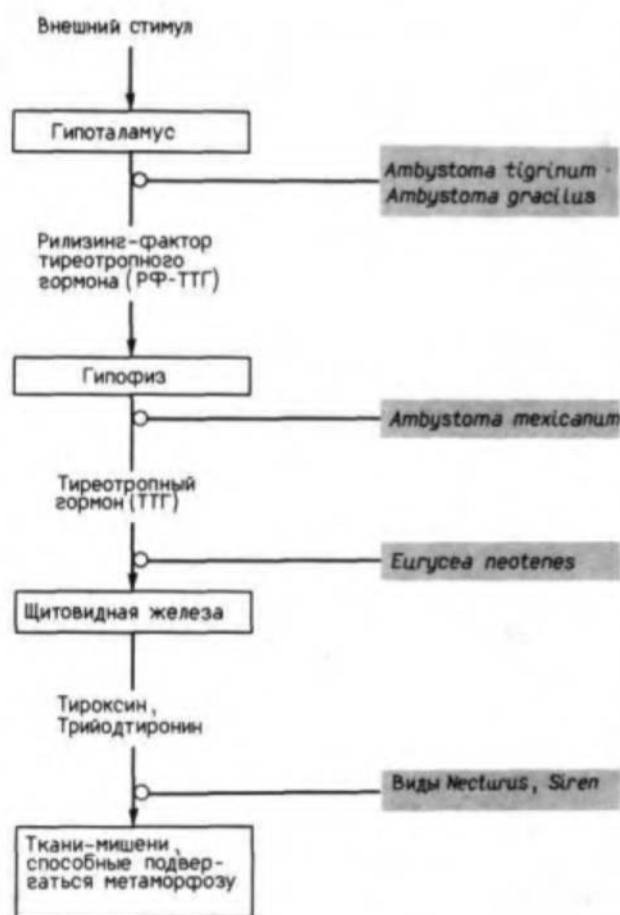


Рис. 19.13. Соотношение уровней функционирования системы гипоталамус–гипофиз–щитовидная железа с блокированием метаморфоза у разных хвостатых амфибий. *Eurycea*, *Necturus* и *Siren*, по-видимому, лишены нормальных рецепторов в ткани-мишени. Применением высоких концентраций тироксина можно индуцировать метаморфоз у *Eurycea*, но *Necturus* и *Siren* не реагируют ни на одну дозу. (По Frieden, 1981.)

зуется небольшими размерами и еще сохраняет перепонки между пальцами). Полагают, что у листовидной саламандры половое созревание наступает по достижении меньших размеров, чем у предковых форм. Такой фенотип дает возможность вести древесный образ жизни.

Прямое развитие

Наряду с животными, удлинившими личиночный период своего развития, существуют формы (которые можно назвать «акселератами»), не имеющие «нормальных» личиночных стадий. Этот последний тип развития называют *прямым развитием*; его можно проиллюстрировать примерами лягушек, не

проходящих стадии головастика, и морских ежей, не имеющих личинки плутеуса. Элинсон и др. (Elinson, 1987; del Pino, Elinson, 1983) изучили *Eleutherodactylus coqui* – небольшую листовидную лягушку кожи, обычную для Пуэрто-Рико. В отличие от *Rana* и *Xenopus* оплодотворение у *E. coqui* происходит в теле самки. Каждое яйцо имеет размеры около 3,5 мм в диаметре (примерно в 20 раз превышающие размеры яйца *Xenopus*). После откладки яиц самец осторожно усаживается на развивающиеся зародыши, защищая их таким образом от хищников и высыхания (Taigen et al., 1984). Раннее развитие кожи не отличается от развития большинства других лягушек. Дробление голобластическое, гаструляция начинается в субэкваториальной зоне (рис. 19.14, А), а нервные валики приподнимаются на спинной стороне (рис. 19.14, Б). Однако вскоре после замыкания нервной трубки появляются почки конечностей (рис. 19.14, В). Их ранняя закладка служит первым признаком прямого развития, минуя лишненную конечностей стадию головастика. Более того, появление конечностей не зависит от тиреоидных гормонов (Lynn, Peadon, 1955). Из студенистой оболочки яйца через три недели вместо головастика выходит маленькая лягушка (рис. 19.14, Г). На первых порах она имеет хвост, который служит скорее для дыхания, чем для передвижения.

Рэфф (Raff, 1987) изучал прямое развитие морских ежей. У «типичного» морского ежа происходит выделение клеток первичной мезенхимы, которые секретируют известковый скелет личинки плутеуса. Такие личинки питаются и растут до образования целомиических пузырей (также происходящих от первичной мезенхимы) по бокам кишки (Pehrson, Cohen, 1986). Разрастаясь, левый целом образует гидроцель; при этом он оказывает индуцирующее влияние на лежащую выше эктодерму, которая инвагинирует, образуя амнион. Гидроцель с амнионом формируют зачаток, продолжающий расти внутри личинки до тех пор, пока при метаморфозе не произойдет его высвобождение в виде ювенильного морского ежа (рис. 19.15).

Для нескольких видов морских ежей характерно подавление стадии плутеуса, сопровождаемое ускорением развития зачатка взрослого организма. Как и в упомянутом выше случае прямого развития лягушки, прямое развитие морского ежа также зависит от накопления большого количества желтка в яйце. Фактически Рэфф обнаружил корреляцию между объемом желтка и степенью выраженности прямого развития (табл. 19.2). Диаметр яиц североамериканских и европейских морских ежей находится в пределах от 60 до 200 мкм. Эти виды претерпевают не прямое развитие, проходя через стадию плутеуса. Из яиц диаметром от 300 до 350 мкм развиваются неполные плутеусы, обладающие личиночным скеле-

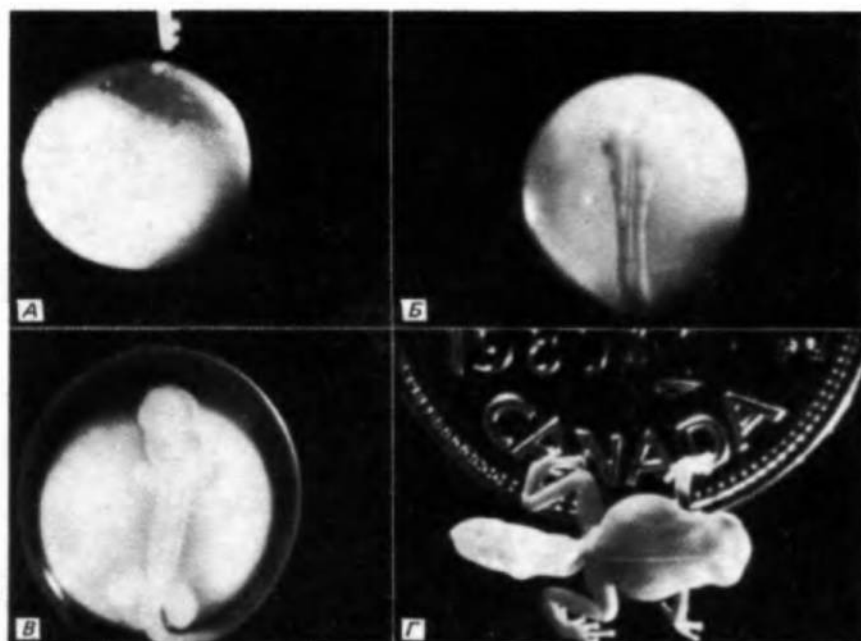


Рис. 19.14. Прямое развитие лягушки *Eleutherodactylus coqui*. А. Ранняя гастрюла; видна губа blastopora. Б. Нейрула с дорсальной стороны; видны приподнимающиеся нервные валики. В. Через сутки после смыкания нервных валиков; заметны почки конечностей. Г. Три недели спустя после оплодотворения. Вылупилась крошечная лягушка (для сравнения она помещена рядом с канадским пенни; отсвет, напоминающий хвост, представляет собой артефакт, вызванный химическим фиксатором, который был использован для приготовления препарата). (Из Elinson, 1987; фотография с любезного разрешения R. P. Elinson.)

том, но лишённые кишки (и, следовательно, не способные питаться). Благодаря ускоренному росту зачатка взрослого организма у этих видов быстро формируется питающийся ювенильный еж. Некоторые богатые желтком яйца достигают в диаметре 2 мм (т. е. по объёму они почти равны яйцу *Xenopus*). В этом случае зародыши развиваются прямо, минуя какую-либо стадию, напоминающую плутеус. В стадии активно питающейся личинки нет необходимости, поскольку зародыши снабжены желтком.

Таблица 19.2. Соотношение между способом развития и размерами яиц морского ежа

Число видов	Размеры яиц, мкм	Способ развития
83	60–345	Питающаяся личинка плутеус
1	280	Факультативный питающийся плутеус
2	300–350	Редуцированный плутеус, не питающийся
19	400–2000	Плутеус утрачен; прямое развитие

По Raff, 1987.

Природа предоставляет возможность иллюстрировать эту зависимость превосходным примером. У берегов Австралии обитают два вида морских ежей, относящихся к роду *Heliocidaris* — *H. erithrogramma* и *H. tuberculata*. Это обычные виды, которые, судя по морфологии и данным секвенирования ДНК, находятся в близком родстве. Они занимают одну и ту же экологическую нишу и размножаются летом в одно и то же время. Однако диаметр яйца *H. erithrogramma* равен 425 мкм и для этого вида характерно прямое развитие, диаметр же яиц *H. tuberculata* составляет 95 мкм и у этого вида имеется личинка. При сравнении этих видов (табл. 19.3) выясняется, что у ежа с прямым развитием сразу начинают формироваться целомы. Назначение плутеуса — питание и передвижение (Strathmann, 1971, 1975) с помощью «рук», несущих ресничные шнуры, которые своим биением направляют в рот пищевые частицы. При прямом развитии не формируется ни функциональный личиночный кишечник, ни личиночный скелет. Организм обходится без пищеварительной системы, занимаясь созданием дефинитивных структур. У морских ежей с прямым развитием не наблюдается выселения потомков клеток-микромеров, дающих начало скелету личинки. Эти клетки немедленно вовлекаются в образование известковых игл молодого ежа.

Рис. 19.15. Нормальный метаморфоз плутеуса во взрослого морского ежа *Lytechinus pictus*. А. Плутеус через 8 сут после оплодотворения. Б. 11-дневный плутеус с зачатком морского ежа на левом целомическом мешке. В. 19-дневный плутеус с развивающимся зачатком ежа. Г. Одиннадцать минут спустя после прикрепления к субстрату; руки личинки резорбируются. (Из Hinegardner, 1969; фотография с любезного разрешения R. T. Hinegardner.)

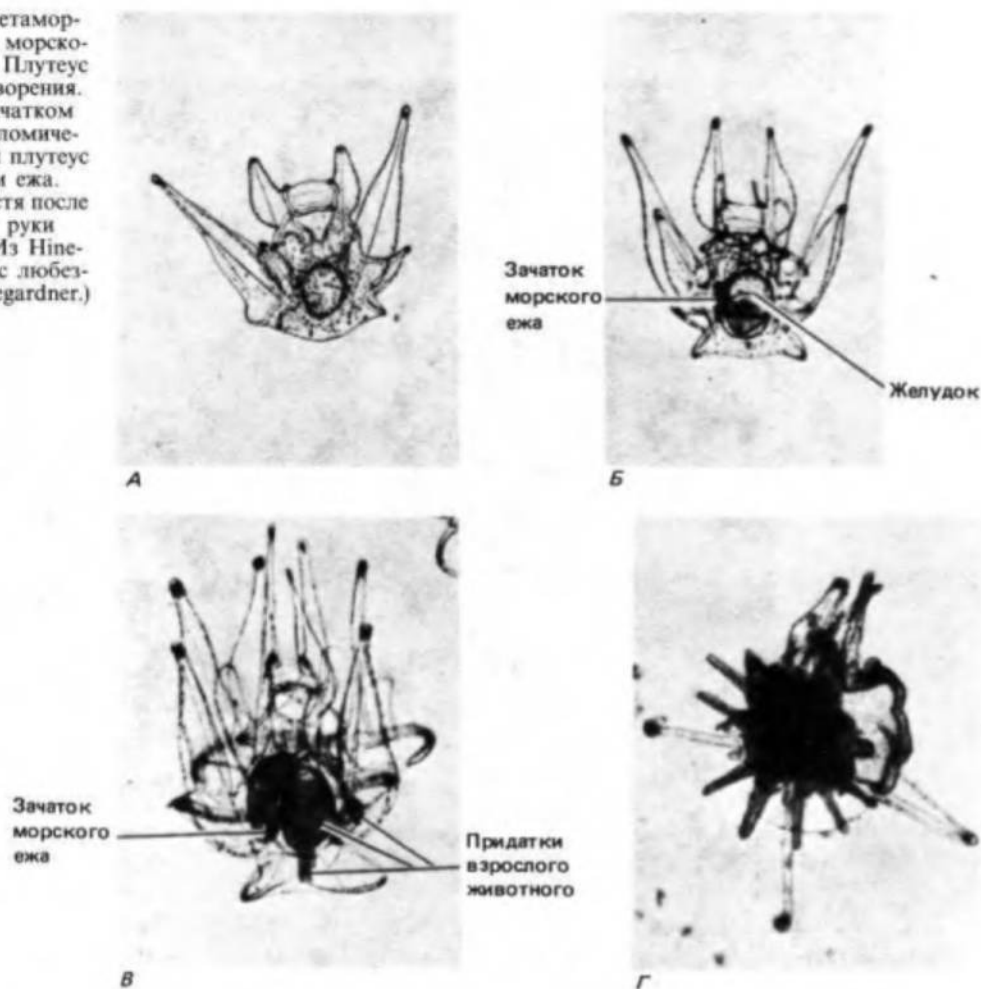


Таблица 19.3. Характерные признаки развивающихся морских ежей с типичным и прямым развитием

А. Признаки развития от оплодотворения до начала развития личинки			Б. Признаки личинки		
	Вид		Вид		
	типичный (<i>Heliocidaris tuberculata</i>)	с прямым развитием (<i>Heliocidaris erithrogramma</i>)		типичный (<i>Heliocidaris tuberculata</i>)	с прямым развитием (<i>Heliocidaris erithrogramma</i>)
Размеры яйца, мкм	60–345	ок. 450	Закладка личиночного скелета	Да	Нет
Оболочка оплодотворения	Есть	Есть	Морфогенез типичных рук плутеуса	Да	Нет (нет личиночного скелета)
Дробление радиальное	Да	Да	Формирование кишки	Да	Нет
Четвертое деление дробления	Отделение микромеров	Равномерное дробление	Формирование целома	Да	Да
Бластула	Равномерная	Неравномерная	Формирование гидроцеля	Да	Да
Активное вылупление	Да	Да	Впячивание амниона	Да	Да
Реснички	Есть	Есть	Формирование взрослого ежа	Да	Да
Первичная мезенхима	32 клетки	Большое число клеток			
Инвагинация архентерона	Да	Да			
Удлинение архентерона	Да	Нет			

Таким образом, мы встречаемся с любопытным парадоксом. Развитие личиночных стадий представляется в большой степени специализированным и ограниченным. В общем личинки типа плутеуса в разных классах иглокожих очень схожи, как и головастики разных групп лягушек. Тем не менее эта жесткость программы развития может быть преодолена, если нет нужды в стадии самостоятельно питающейся личинки. Увеличение количества желтка предоставляет зародышу эту возможность.

Пластичность личиночного развития открывает новые эволюционные перспективы. Лягушки с прямым развитием, например, могут осваивать регионы, где нет длительно существующих водоемов. Значение прямого развития в случае морского ежа не

столь очевидно, хотя примерно 20% тропических видов характеризуется именно этим способом развития. Можно предположить, что прямое развитие служит механизмом, с помощью которого сокращается площадь расселения или уменьшается время, в течение которого свободноплавающие личинки оказываются уязвимы для хищников. Эта пластичность развития заставляет эмбриологов более критично отнестись к закону Бэра, так как раннее развитие может оказаться резко измененным таким фактором, как размеры яйца. Филогенетические связи, выявляемые на основе сходства стадий раннего развития, должны быть пересмотрены в свете этих новых данных о гибкости развития.

Метаморфоз у насекомых

Выворачивание и дифференцировка имажинальных дисков

Если метаморфоз у амфибий характеризуется перестройкой существующих тканей, то метаморфоз у насекомых часто связан с разрушением личиночных тканей и замещением их совершенно иной популяцией клеток. Как у амфибий, так и у насекомых метаморфоз предполагает установление определенного соотношения между гормоном, необходимым для продолжения личиночного роста, и гормоном, стимулирующим новые процессы развития.

Существуют три основных типа развития насекомых. Для незначительного числа видов, например для ногохвосток, характерно прямое развитие без личиночной стадии. Другие, в частности саранча и клопы, претерпевают постепенный **гемиметаболический** метаморфоз или метаморфоз с **неполным превращением** (рис. 19.16, А). В этом случае можно проследить преемственность между личиночными органами и органами взрослого насекомого. Зачатки крыльев, гениталий и других структур взрослого насекомого уже представлены при вылуплении и становятся все более зрелыми с каждой линькой. При последней линьке возникает крылатый половозрелый взрослый организм. Личиночная форма гемиметаболического насекомого называется **нимфой**.

Голометаболические насекомые, или насекомые с **полным превращением** (мухи, жуки и бабочки) характеризуются тем, что у них между личиночной и взрослой стадиями происходит внезапная и резкая трансформация (рис. 19.16, Б). Ювенильная личинка (гусеница, червовидная личинка) по мере роста претерпевает серию линек. Только что вылупившаяся личинка покрыта плотной **кутикулой**. Возможность роста обеспечивается сбрасыванием старой кутикулы

и заменой ее новой большего размера. Постэмбриональное развитие таких насекомых представлено рядом последовательных линек. Число линек до стадии взрослого насекомого является видовым признаком, однако факторы внешней среды могут увеличить или сократить это число. Постэмбриональное развитие

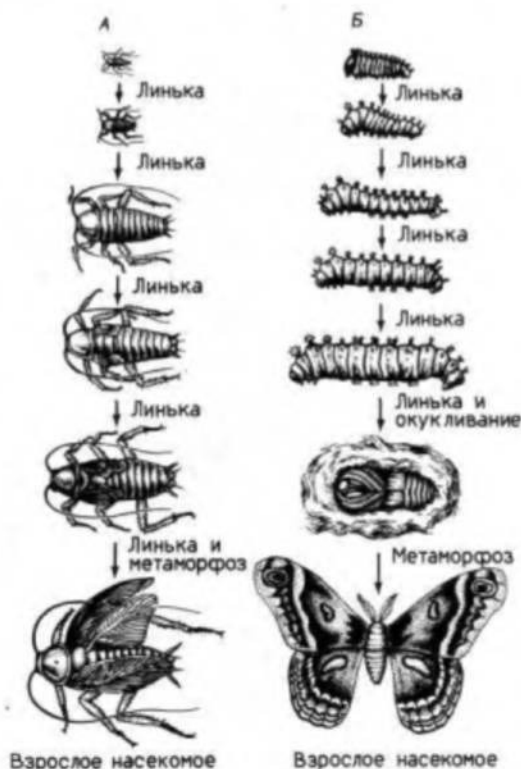


Рис. 19.16. А. Гемиметаболическое развитие (неполное превращение). Б. Голометаболическое развитие (полное превращение).

насекомых разделяется линьками на ряд стадий, называемых **возрастом**. Личинка последнего возраста приступает к **метаморфозной линьке** и становится **куколкой**. Куколка не питается, она живет за счет энергии пищи, потребленной личинкой.

Именно в куколке и происходит трансформация ювенильной стадии во взрослую. Старое тело личинки подвергается упорядоченной деструкции по мере того, как из скоплений недифференцированных клеток развиваются органы взрослого животного. Эти скопления недифференцированных клеток (гистиобластов) и называются **имагинальными дисками**. Когда взрослый организм (**имаго**) сформируется, происходит последняя **имагинальная линька** – куколка сбрасывает покровы и на свет появляется половозрелое насекомое. Таким образом, в голометаболических личинках имеются две популяции клеток: личиночные клетки, функционирующие на ювенильных стадиях, и имагинальные клетки, собранные в кластеры, ждущие сигнала, чтобы приступить к дифференцировке.

Ранее при обсуждении транسدетерминации и дифференциальной транскрипции генов мы упоминали об имагинальных дисках. У *Drosophila* различают десять основных пар имагинальных дисков, из которых образуются покровы взрослого насекомого (за

исключением брюшка), и генитальный диск, формирующий репродуктивные структуры. Эпидермис брюшка образуется из небольшой группы имагинальных клеток, называемых гистиобластами, которые лежат в области личиночной кишки, а другие скопления гистиобластов, локализованные по всему телу личинки, формируют внутренние органы взрослого. Имагинальные диски можно видеть у только что вылупившейся личинки в виде локальных утолщений эпидермиса; в качестве примера на рис. 19.17 представлен диск второй грудной ноги. У *Drosophila* диски глаза – антенны, крыла, жужжальца, ноги и гениталий содержат соответственно 70, 38, 20, 36–45 и 64 клетки (Madhavan, Schneiderman, 1977). И если большая часть клеток личинки обладает очень низкими митотическими возможностями, то клетки имагинальных дисков в соответствующее время быстро делятся (рис. 19.18). По мере пролиферации клетки формируют трубкообразный эпителий, который закручивается в компактную спираль (рис. 19.19). Наиболее крупный диск – диск крыла – содержит около 60 000 клеток, тогда как число клеток, составляющих диски ноги и жужжальца, равно примерно 10 000 (Fristrom, 1972). При метаморфозе эти клетки дифференцируются и **выворачиваются**. На рис. 19.20 представлена презумптивная карта и последовательность

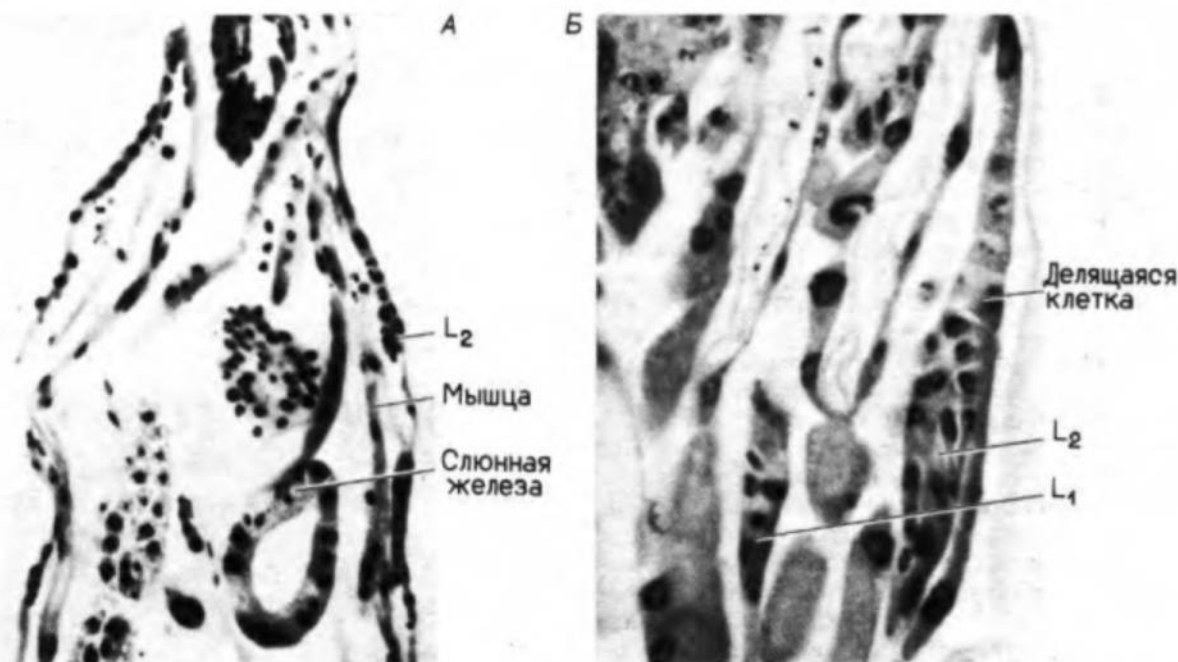


Рис. 19.17. Развитие имагинальных дисков. А. Поперечный срез 14-часовой личинки *Drosophila* с эпидермальным зачатком диска мезоторакальной ноги (L_2). Б. Аналогичный срез 30-часовой личинки после 3-часового воздействия колхицином для накопления делящихся клеток. Клетки диска мезоторакальной ноги (L_2) пролиферируют, но одна из них прекратила делиться. На этом же срезе виден диск проторакальной ноги (L_1). (Из Madhavan, Schneiderman, 1977; фотографии с любезного разрешения М. М. Madhavan.)

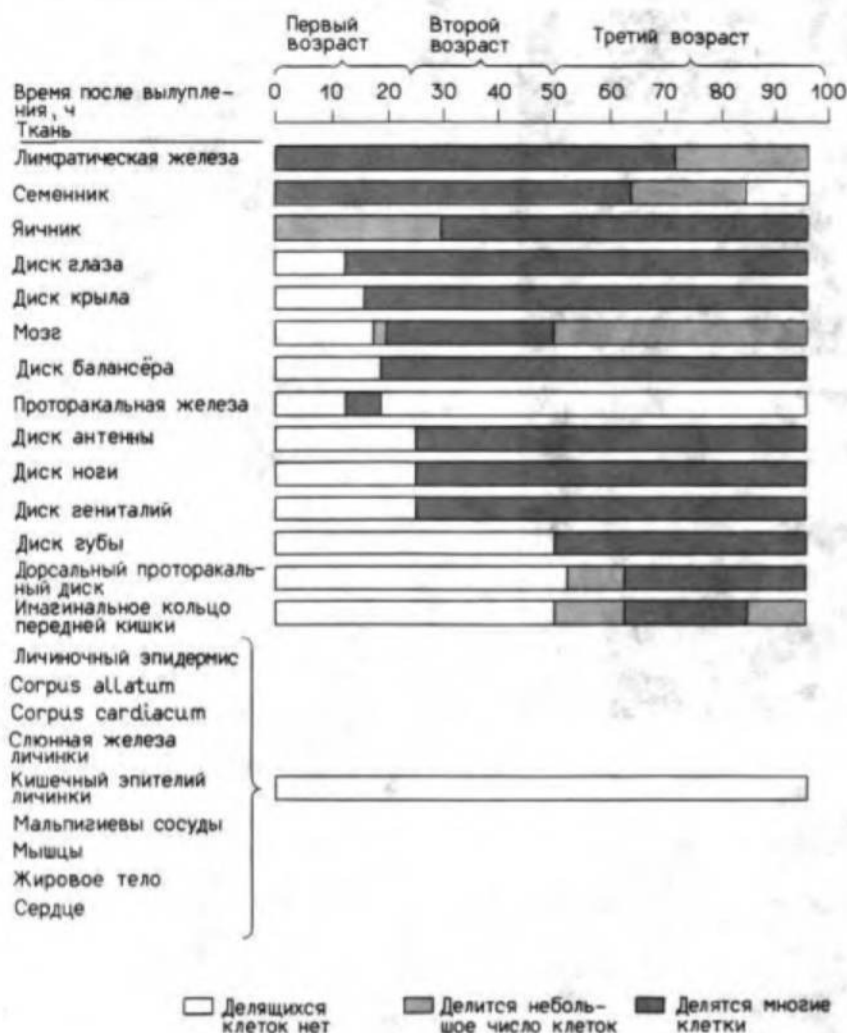


Рис. 19.18. Характер деления клеток в некоторых личиночных и имагинальных тканях в ходе развития личинки *Drosophila*. (По Madhavan, Schneiderman, 1977.)

выворачивания диска ноги. Клетки центральной части диска дают наиболее дистально расположенные части ноги – коготки и лапку, – а периферические клетки становятся проксимальными структурами, образуя тазик и прилежащий эпидермис. Дифференцированные клетки придатков и эпидермиса секретируют кутикулу, соответствующую данной области. Диски изначально представлены эпидермальными клетками, однако небольшое число **адвентициальных клеток** мигрирует в диск в начале развития. В процессе трансформации куколки эти клетки дают начало мышечным и нервным элементам.

Процесс выворачивания может быть инициирован в культуре путем помещения имагинальных дисков в среду, содержащую гормон линьки экдистерон. Кроме того, выворачивание подавляется добавлением любого из трех наборов ингибиторов: 1) ингибиторов синтеза РНК и белка, если они вносятся в культуру

имагинальных дисков в то же время, что и экдистерон; известно, что выворачиванию предшествует синтез РНК и белка (рис. 19.21) и некоторые из этих белков необходимы для осуществления этого процесса; 2) цитохалазина В, подавляющего функции микрофиламентов, что указывает на необходимость активных микрофиламентов при выворачивании; 3) конканавалина А – растительного лектина, связывающегося с поверхностными α-глюкозидными и α-маннозидными остатками сахаров, которые, как известно, снижают подвижность компонентов мембраны. Совокупность этих данных указывает на то, что процесс выворачивания имагинальных дисков требует синтеза новых белков, сформированной системы активных микрофиламентов и клеточной коммуникации путем взаимодействия клеточных поверхностей (Fristrom et al., 1977).



Рис. 19.19. Выворачивание имажинального диска. Микрофотографии диска ноги дрозофилы (личинка третьего возраста) до (А) и после (Б) выворачивания, полученные с помощью сканирующего электронного микроскопа. (Из Fristrom et al., 1977; фотографии с любезного разрешения D. Fristrom.)

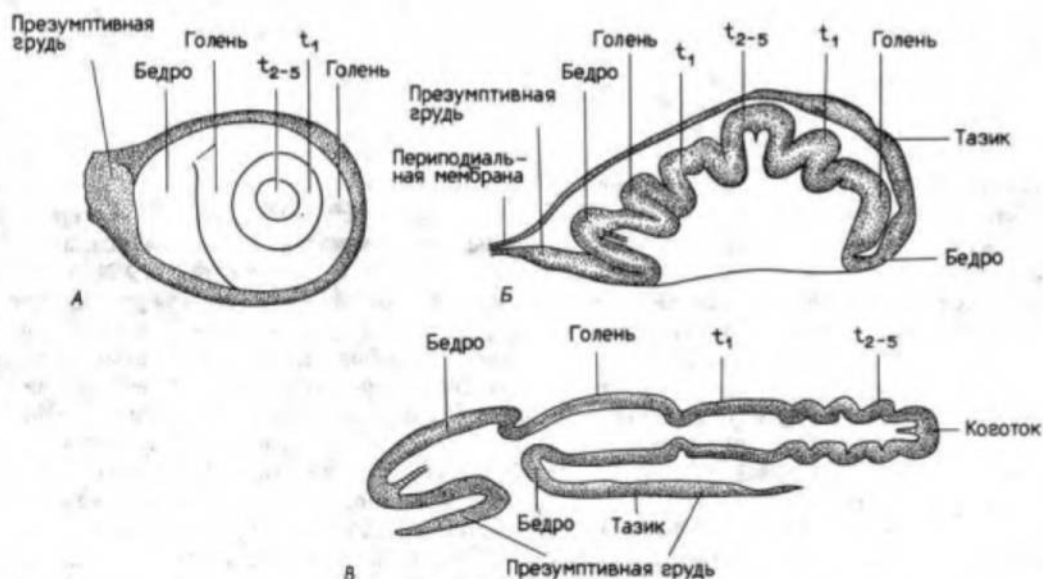


Рис. 19.20. Последовательность выворачивания диска ноги у дрозофилы. А. Вид поверхности диска до выворачивания. Б, В. Продольный срез через выворачивающийся и вывернутый диск ноги. t_1 —основание лапки; t_{2-5} —тарзальные сегменты 2–5. (Из Fristrom, Fristrom, 1975; с любезного разрешения D. Fristrom.)

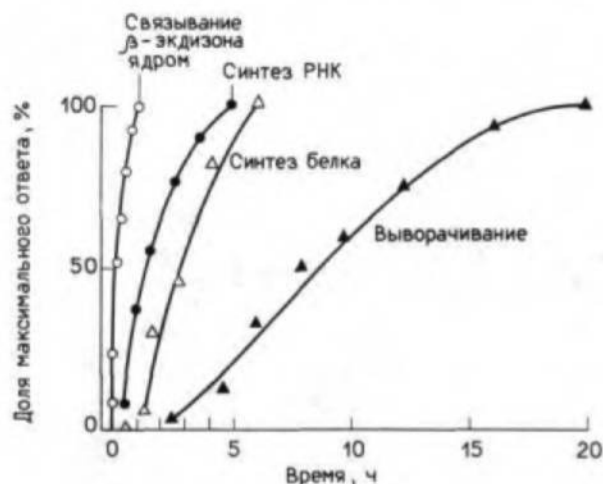


Рис. 19.21. Молекулярные и морфологические события после введения экдистерона в культуральную среду с имагинальными дисками ноги. (По Fristrom et al., 1977.)

Перестройка нервной системы

Как и у бесхвостых амфибий, метаморфоз у насекомых сопровождается значительной реконструкцией нервной системы организма. Некоторые нейроны гибнут, другие начинают выполнять новые функции. В гл. 15 мы рассмотрели развитие фоторецепторов из эпителиальных клеток глазного диска. В этом случае дифференцируется новый набор нейронов с новыми функциями. Нейроны, связанные с гибнущими тканями, либо гибнут, либо меняют свою специализацию. Нерв, иннервирующий мышцу ложной ножки гусеницы бражника *Manduca*, обладает независимой чувствительностью к экдистерону и гибнет одновременно со своей личиночной тканью-мишенью. Однако моторный нейрон, иннервирующий вторую косую мышцу личинки, переживает гибель своей мишени, чтобы иннервировать новообразованную взрослую мышцу (четвертую дорсальную наружную мышцу), которая дифференцируется в ходе метаморфоза (Truman et al., 1985).

В некоторых случаях личиночные функции начинают осуществляться другими областями взрослого организма. Так, у личинки светляка парный орган свечения располагается на восьмом (последнем) брюшном сегменте. Нейроны восьмого брюшного сегмента контролируют их люминесценцию. В процессе окукливания на шестом и седьмом сегментах также развиваются фотогенные клетки и нервы, контролируемые режим свечения. К концу окукливания только шестой и седьмой сегменты несут органы свечения. Более того, если у личинки удалить эти органы, то у взрослых они тем не менее образуются (Strause et al., 1979). Таким образом, функцию гангли-

ев восьмого сегмента начинают выполнять ганглии шестого и седьмого сегментов.

Гормональный контроль метаморфоза у насекомых

Как и у амфибий, метаморфоз у насекомых регулируется двумя эффекторными гормонами, которые находятся под контролем нейросекреторных гормонов мозга (см. обзор Granger, Bollenbacher, 1981; Gilbert, Goodman, 1981). Несмотря на то что отдельные детали метаморфоза различны у разных видов, все же для некоторых организмов можно составить его общую схему (рис. 19.22). Процесс линьки инициируется в мозге, нейросекреторные клетки которого в ответ на нервный, гормональный или средовой сигналы выделяют **проторакотропный гормон (ПТТГ)** — пептидный гормон с молекулярной массой 40 000 дальтон, стимулирующий образование **экдизона** клетками **проторакальной железы**. Экдизон, однако, не является активным гормоном, скорее он служит прогормоном, который должен перейти в активную форму. Этот переход осуществляется благодаря гемсодержащей оксидазе в митохондриях периферических тканей, например в жировом теле, где экдизон превращается в активную форму — **экдистерон** (рис. 19.23)¹.

Каждая линька происходит в результате двух импульсов секреции экдистерона. Первый импульс вызывает небольшое повышение концентрации экдизона в гемолимфе (крови) личинки и, по-видимому, имеет существенное значение только при метаморфозной линьке. Второй, высокий пик концентрации экдистерона инициирует события, связанные с линькой и не зависящие от гормонального статуса личинки во время первого импульса экдизона. Этот всплеск экдистерона побуждает эпидермальные клетки синтезировать ферменты, переваривающие и реутилизирующие компоненты кутикулы. В некоторых случаях, например у бабочки *Secropia*, линька может находиться под контролем условий окружающей среды. Ее ПТТГ перестает выделяться после формирования куколки. В течение зимы куколка остается в состоянии покоя, называемом **диапаузой**, которая при определенных условиях может длиться очень долго. Однако, если после двухнедельного воздействия холодом перенести куколку в более теплое помещение, то она может приступить к линьке (Williams, 1952, 1956).

Второй главный эффекторный гормон, контроли-

¹ С тех пор как Бутенандт и Карлсон (Butenandt, Karlson, 1954) в 1954 г. выделили 25 мг гормона линьки из 500 кг куколок тутового шелкопряда, экдистерон называли по-разному, в частности β-экдизон, 20-гидроксиэкдизон и крустэкдизон.

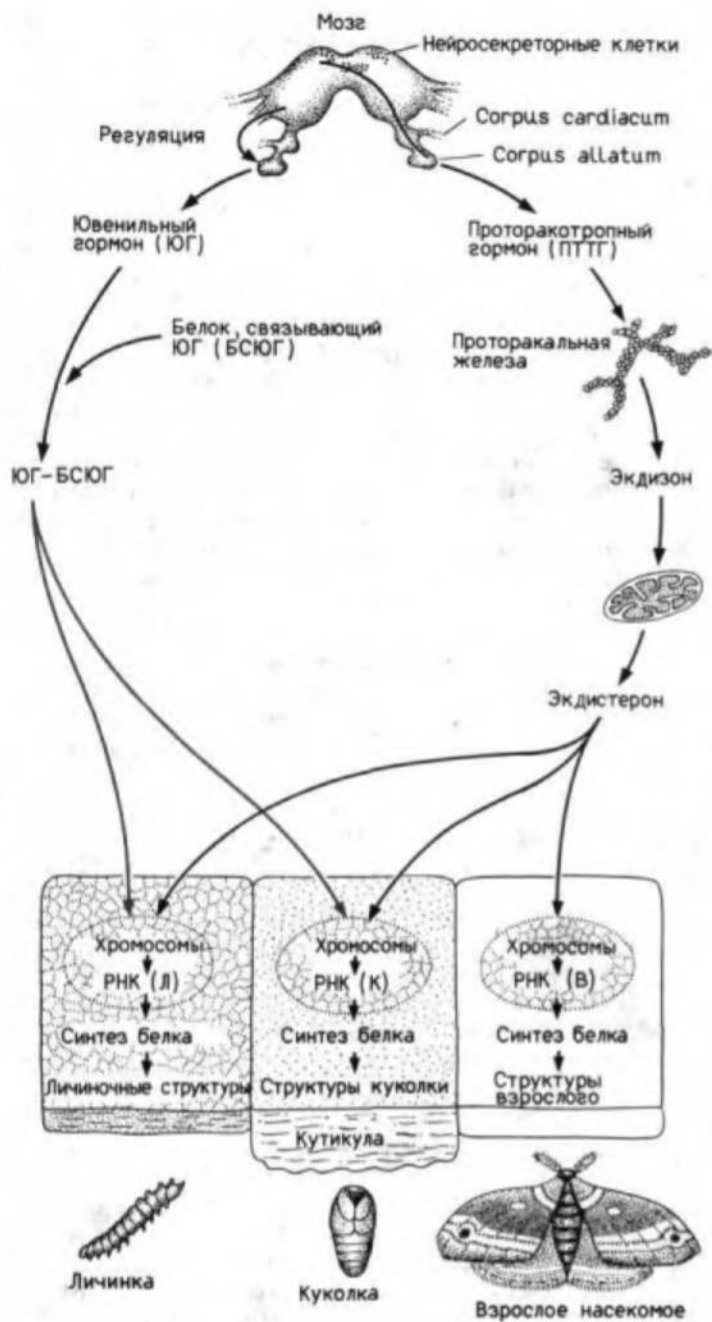


Рис. 19.22. Схема, иллюстрирующая контроль линьки и метаморфоза у табачного бражника. (По Gilbert, Goodman, 1981.)

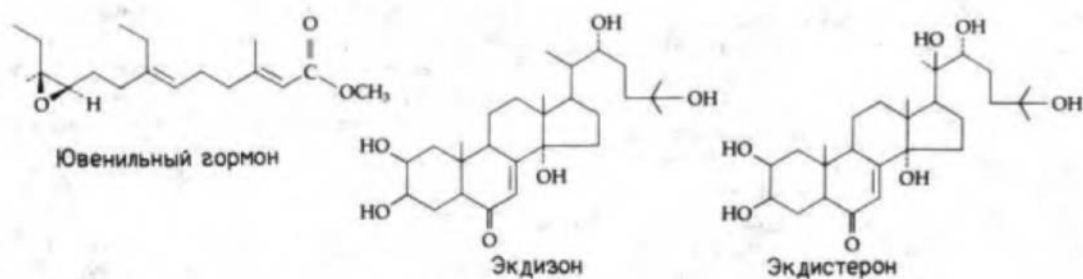


Рис. 19.23. Структурные формулы ювенильного гормона, экдизона и активного стероида экдистерона (20-гидрокси-экдизона).

рующий развитие насекомых, — это **ювенильный гормон** (ЮГ). Структурная формула обычного ювенильного гормона, активного у гусеницы *Secropia*, представлена на рис. 19.23. Ювенильный гормон образуется в *corpora allata*, или прилежащих телах. Секреторные клетки *corpora allata* активны в течение личиночных линек, но прекращают функционировать при метаморфозной линьке. Этот гормон препятствует наступлению метаморфоза. В присутствии ювенильного гормона стимулированная экдизоном линька завершается переходом личинки в новый возраст. У личинки последнего возраста синтез ювенильного гормона постепенно снижается и, наконец, падает ниже критического, порогового значения. Это событие индуцирует выделение мозгом ПТТГ. ПТТГ в свою очередь стимулирует проторакальную железу к синтезу и секреции большого количества экдизона. Образовавшийся экдистерон на фоне относительно небольшого содержания ювенильного гормона переводит клетки на путь, ведущий к окукливанию. Последующая линька, которая происходит при сниженном количестве ювенильного гормона, продвигает развитие организма от личинки к куколке (Nijhout, Williams, 1974; Rountree, Bollenbacher, 1986). В процессе окукливания *corpora allata* не секретируют ювенильный гормон и стимулированная экдизоном куколка переходит к метаморфозу во взрослое насекомое. Удаление *corpora allata* у личинки вызывает ее преждевременный метаморфоз в недоразвитый организм (рис. 19.24), а воздействие экзогенным ювенильным гормоном на личинку последнего возраста может отсрочить линьку куколки. Таким образом, метаморфоз происходит в том случае,

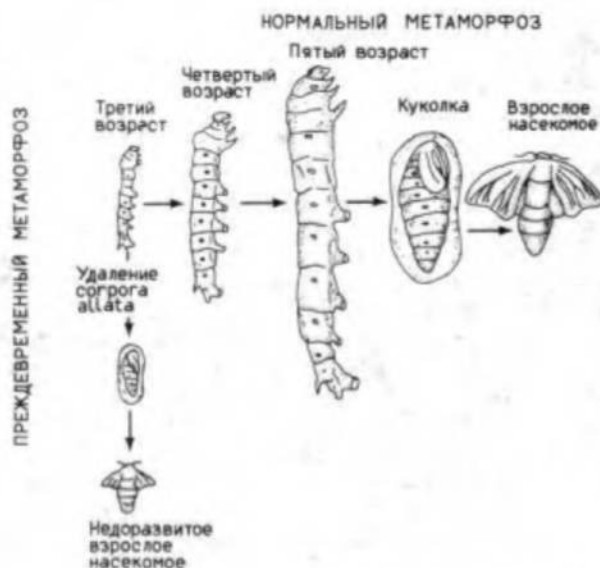


Рис. 19.24. Преждевременный метаморфоз тутового шелкопряда, индуцируемый удалением *corpora allata* у личинки третьего возраста. Минувя линьку, ведущую к пятому возрасту, личинка переходит прямо к окукливанию.

если экдистерон воздействует на имагинальные диски в отсутствие ювенильного гормона. По-видимому, в отсутствие ювенильного гормона экдистерон индуцирует синтез белков, активируя образование поздних пуфов. Если же ювенильный гормон присутствует во время первого импульса экдистерона, то ранние пуфы образуются как обычно, но образование поздних пуфов подавлено (Richards, 1978).

Дополнительные сведения и гипотезы

Конец детства; сигнал к началу метаморфоза

В 1880 г. к Уильяму Кейту Бруксу, эмбриологу из Университета Джона Гопкинса (консультировавшему диссертации Т. Моргана, Э. Б. Вильсона, Р. Гаррисона и И. Г. Конклина), обратились с просьбой помочь промышленному разведению устриц в Чесапикском заливе, которое стало приходить в упадок. В течение десятилетий драгировка устриц из залива компенсировалась их воспроизводством. Однако в последнее время уловы стали уменьшаться с каждым годом. Требовалось установить и устранить причину. Экспериментируя с устрицами, Брукс обнаружил, что американские устрицы (в отличие от своих европейских сородичей) для метаморфоза нуждаются в твердом субстрате. В течение многих лет ловцы устриц выбрасывали раковины обратно в море, но в последние годы стали продавать их на цементные

заводы. Решение Брукса было лаконичным: возвратить раковины в море. Популяция устриц отреагировала на это решение и в результате балтиморские причалы до сих пор торгуют их потомками.

Исследование Брукса привлекло внимание к очень важному обстоятельству. Личинки не могут приступить к метаморфозу в любых условиях. Почти всегда им требуется субстрат для оседания. Камерон и Хайнгарднер (Cameron, Hinegardner, 1974) обнаружили, что оседание плутеусов двух морских ежей, *Arbacia punctulata* и *Lytechinus pictus*, происходит только в сосудах, дно которых покрыто бактериальной пленкой. Бактерии служат источником фактора, индуцирующего оседание. Этот фактор способен проходить через мембрану, задерживающую вещества с молекулярной массой более 5 000 дальтон. В чис-

том аквариуме плутеусы могут плавать более двух месяцев, а затем погибают (Hinegardner, 1969). Для оседания личинок разных иглокожих требуются различные условия.

Взрослый морской еж *Dendraster excentricus* помогает своим личинкам приступить к метаморфозу, выделяя в песок какое-то вещество (возможно, пептид с молекулярной массой менее 10 000 дальтон). Это вещество привлекает личинок *D. excentricus* и индуцирует их метаморфоз. Поэтому личинки *Dendraster* имеют тенденцию скапливаться внутри или вблизи колонии этих морских ежей; в результате плотность их на некоторых участках морского дна достигает нескольких сотен особей на 1 м², тогда как соседние участки оказываются незаселенными. Была высказана гипотеза (Highsmith, 1982), что взрослые морские ежи в таких скоплениях способствуют выживанию отдельных особей, защищая метаморфизирующих личинок *Dendraster* от хищных ракообразных.

Естественно, что успешнее будут выживать те особи, метаморфоз которых индуцируется в условиях лучшей защиты от врагов или вблизи потенциального источника пищи. Для оседающей личинки будет крайне невыгодно осесть там, где для нее нет пищи, особенно если взрослая форма этого животного ведет практически сидячий образ жизни. Специфических условий для оседания требуют личинки различных моллюсков (табл. 19.4). У большинства голожаберных моллюсков сигналом для наступления метаморфоза служит пища взрослых особей (которая у разных видов различна). В некоторых случаях выделены и идентифицированы растворимые компоненты добычи, индуцирующие метаморфоз (Hadfield, 1977). Оседание личинки корабельного червя *Teredo navalis* индуцируют вещества, выделяемые древесиной; растворимый материал, вымываемый из раковин устриц, вызывает оседание их личинок.

У насекомых основную роль в инициации метаморфоза играют размеры личинки. Так, гусеница табачного бражника не приступит к метаморфозу до тех пор, пока ее масса не достигнет 3 г, в некоторых случаях ей понадобятся для этого дополнительные личиночные линьки (Safranek, Williams, 1984). Вероятно, по достижении нужной стадии мозг выделяет вещество, ингибирующее секрецию ювенильного гормона (Bhaskaran et al., 1980). У пчел размеры личинки-самки, приступающей к метаморфозной линьке, детерминируют судьбу организма, т. е. будет ли особь рабочей пчелой или маткой. У личинки, питающейся обогащенным питательными веществами «маточным молочком», сохраняется активность *sogroga allata* в течение последней возрастной стадии. Ювенильный гормон, секретируемый этим органом, задерживает окукливание, создавая таким образом условия для дополнительного роста, а у некоторых

Таблица 19.4. Специфика субстратов для оседания личинок моллюсков

Виды моллюсков	Субстрат
GASTROPODA (УЛИТКИ, ГОЛОЖАБЕРНЫЕ)	
<i>Nassarius obsoletus</i>	Ил с места обитания взрослых
<i>Philippia radiata</i>	<i>Porites lobata</i> (кишечнополостное)
<i>Adalaria proxima</i>	<i>Electra pilosa</i> (мшанка)
<i>Doridella obscura</i>	<i>Electra crustulenta</i> (мшанка)
<i>Phestilla sibogae</i>	<i>Porites compressa</i> (кишечнополостное)
<i>Rostanga pulchra</i>	<i>Ophlitaspongia pennata</i> (губка)
<i>Trinchesia aurantia</i>	<i>Tubularia indivisa</i> (кишечнополостное)
<i>Elysia chlorotica</i>	Первичная пленка микроорганизмов с места обитания взрослых особей
<i>Haminoea solitaria</i>	Первичная пленка микроорганизмов с места обитания взрослых особей
<i>Aplysia californica</i>	<i>Laurencia pacifica</i> (красная водоросль)
<i>Aplysia juliana</i>	<i>Ulea</i> sp. (зеленая водоросль)
<i>Aplysia parvula</i>	<i>Chondrococcus hornemanni</i> (красная водоросль)
<i>Stylocheilus longicauda</i>	<i>Lyngbya majuscula</i> (цианобактерия)
AMPHINEURA (ХИТОНЫ)	
<i>Tonicella lineata</i>	<i>Lithophilum</i> sp., <i>Lithothamnion</i> sp. (красные водоросли)
LAMELLIBRANCHIA (ДУВСТВОРЧАТЫЕ)	
<i>Teredo</i> sp.	Дерево
<i>Bankia gouldi</i>	Дерево
<i>Mercenaria mercenaria</i>	Выделения двустворчатых моллюсков; песок
<i>Placopecten magellanicus</i>	Раковины взрослых; песок и т. п.
<i>Mytilus edulis</i>	Нитчатые водоросли; подобный небиологический шелковый материал
<i>Crassostrea virginica</i>	Экстракт из раковин и из самих моллюсков; «гликоген панцирных»
<i>Ostrea edulis</i>	Мышечный экстракт; мантийная жидкость взрослых особей

Из Hadfield, 1977.

видов — и большей анатомической специализации развивающейся пчелы (Plowright, Pendrel, 1977; Brian, 1980).

Вещества, вызывающие преждевременное развитие

У многих насекомых личиночные формы специализированы для питания, а взрослые — для размножения и передвижения. Понятно, что сокращение длительности стадии прожорливой личинки должно быть благоприятно для растений. Из сложноцветных выделены два соединения, индуцирующие преждевременный метаморфоз личинок некоторых насеко-

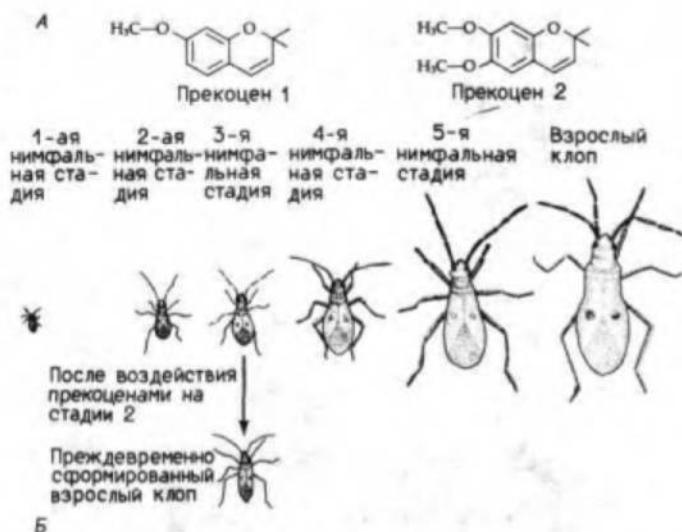


Рис. 19.25. Преждевременный метаморфоз у клопа *Dysdercus*, вызванный прекоценом. **А.** Структурные формулы двух активных прекоценов, выделенных из растений. **Б.** Приостановленное развитие *Dysdercus*. Воздействие прекоценом на вторую нимфальную стадию приводит к тому, что личинка прекращает последовательные линьки и раньше времени превращается во взрослого насекомого, остающегося, однако, стерильным. (По Bowers et al., 1976.)

мых в стерильный взрослый организм (Bowers et al., 1976). Эти соединения названы **прекоценом** и их химическое строение представлено на рис. 19.25, **А**. Личинки или нимфы этих насекомых, опыленные любым из упомянутых соединений, претерпевают еще одну линьку и приступают к метаморфозу во взрослую форму (рис. 19.25, **Б**). Механизм действия этих веществ заключается в том, что они вызывают избирательную гибель клеток corpora allata у незрелого насекомого (Schooneveld, 1979; Pratt et al., 1980). Клетки corpora allata, как известно, ответственны за синтез ювенильного гормона, поэтому, лишившись ювенильного гормона, личинка переходит к метаморфозной и имагинальной линькам. Кроме того, ювенильный гормон отвечает также за созревание яиц насекомого (гл. 21). В отсутствие этого гормона самки остаются стерильными. Таким образом, прекоцены способны защищать растения, вызывая преждевременный метаморфоз личинок некоторых насекомых в стерильных взрослых особей.

Животные и растения связали свои жизненные циклы во многих отношениях. Период цветения у растений, например, должен точно совпадать по времени с переходом его специального опылителя во взрослую стадию. Что толку цвести, когда опылитель существует в виде обитающей в почве личинки? Экологи обнаружили целый ряд примеров такого тончайшего согласования во времени фаз развития. Например, у некоторых ос-опылителей самцы выходят из куколки за несколько недель до выхода самок. Некоторые дикие орхидеи используют эту разницу во времени, выпуская цветы, напоминающие брюшко ос-самки. Самцы пытаются спариваться с этими цветами, но их напрасные попытки приводят лишь к опылению орхидей (Mecuse, 1961; Procter, Yeo, 1972). Жизненные циклы животных, развивающихся с метаморфозом, всегда сплетены в сложную сеть взаимодействий, связывающих виды друг с другом.

Множественные гормональные взаимодействия при развитии молочной железы

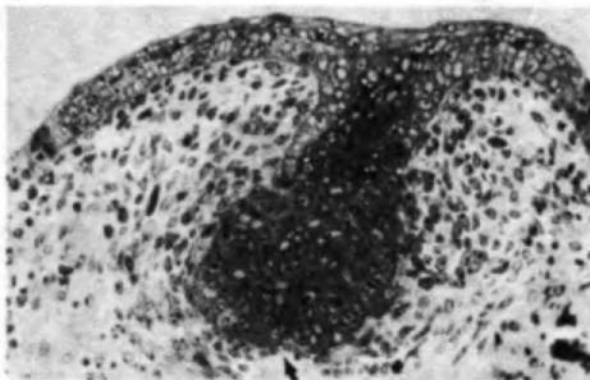
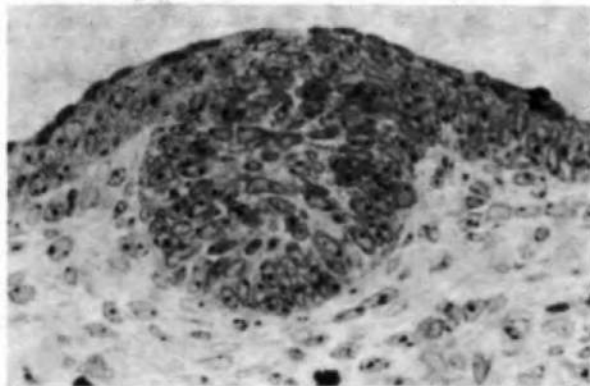
Гормоны могут оказывать на развитие как конструктивное, так и деструктивное действие. При метаморфозе гормоны могут служить для одних клеток сигналами гибели, для других — сигналами дифференцировки новых органов. При развитии молочной железы различные гормоны сообщают рудиментарной ткани различную информацию. Развитие молочной железы можно подразделить на три стадии: эмбриональную, пубертатную и стадию лактации (беременности). Специфические продукты дифферен-

цированных молочных желез — казеин и другие молочные белки — образуются только на последней стадии (Torper, Freeman, 1980).

Эмбриональная стадия

В ходе нормального развития у самки мыши на 11-й день по обеим сторонам брюшной средней линии появляются две полосы приподнятой эпидермальной ткани. Это образование называют **молочным гребнем**. В каждом гребне формируются центры концентрации клеток, называемые **молочными почками** (рис. 19.26). У мыши с каждой стороны образуется по пять таких почек, у человека — по одной.

А



Б

Рис. 19.26. Последовательность стадий раннего развития молочной железы у мыши-самки. А. Почка молочной железы 12-дневного зародыша. Эпителиальные клетки эктодермы внедряются в мезенхиму. Б. Млечный тяж 15-дневного зародыша. Небольшая щель на дне свидетельствует о начале ветвления. В. У 20-дневного зародыша просвет тяжа расширяется с образованием полости. (Из Hogg et al., 1983; фотографии с любезного разрешения С. Tickle.)



В

Незадолго до рождения эпителиальные клетки в месте этих узелков начинают активно пролиферировать, образуя тяж клеток — **первичный млечный проток**. Этот тяж клеток на одном конце открывается на коже, формируя сосок, на другом конце начинает ветвиться. На этом его развитие останавливается вплоть до полового созревания.

Развитие ткани молочной железы у самцов мыши происходит так же, как у самок до 13–15 дня беременности. В этот период мезенхимные клетки концентрируются вокруг центра млечной почки, и клетки первичного протока погибают. В результате небольшой тяж эпителиальных клеток отделяется от кожи (рис. 19.27) и зачаток молочной железы не достигает поверхности. Дальнейшего развития железы не происходит.

Гибель клеток млечного тяжа (первичного протока) у самцов изучалась путем культивирования клеточных зачатков (почек) *in vitro*. Такие почки, взятые от самок, как и в норме, формируют дольки, связанные с поверхностью (рис. 19.28). Однако при добавлении в культуральную среду тестостерона они подвергаются редукции. Мужские почки в отсутствие тестостерона также образуют дольки. Иначе говоря, тестостерон предотвращает развитие молочной же-

лезы у самцов. Тестостерон вызывает специфическую гибель клеток путем стимуляции мезенхимных клеток к разрушению эпителиального тяжа. Это было показано в серии экспериментов по рекомбинации. У мышей (как и у человека) существует мутация, обуславливающая возникновение **синдрома отсутствия чувствительности к андрогену**, при которой генетический самец (XY) лишен функциональных рецепторов к тестостерону. В таких случаях, несмотря на активную секрецию семенниками тестостерона, организм не может на него реагировать. Одним из последствий этой мутации является развитие у таких индивидуумов молочных желез (см. рис. 21.8). Были проведены эксперименты (Kratohwil, Schwartz, 1976), в которых из нормальных и мутантных молочных желез выделяли мезенхимные и эпителиальные клетки и культивировали их в различных комбинациях. В одни культуры вносился тестостерон, в другие — нет. Результаты этих экспериментов представлены на рис. 19.29. Если и мезенхима, и эпителий принадлежали дикому типу, зачаток развивался в ткань молочной железы. При внесении тестостерона мезенхима собиралась вокруг почки и почка ее рассасывалась. Если нормальный эпителий культивировали с мутантной мезенхимой (не способной



Рис. 19.27. Зачаток молочной железы у мужского плода мыши. Зачаток отделен от эпидермиса. (Из Raynaud, 1961.)

реагировать на тестостерон), то нормальное развитие молочной железы шло и в присутствии тестостерона. Однако в случае нормальной мезенхимы и мутантного эпителия тестостерон мог вызывать дегенерацию клеток млечного тяжа. Таким образом, мишенью для тестостерона служит не эпителий, а мезен-

хима. Именно реакция мезенхимы обуславливает действие тестостерона. У самцов тестостерон побуждает мезенхимные клетки млечной почки разрушать прилежащий эпителий. Этот эффект является специфическим: мезенхима иного происхождения не способна вызвать гибель эпителиальных клеток молочной железы, другой эпителий не может быть разрушен млечной мезенхимой (Dürnberger, Kratochwil, 1980).

Пубертатная стадия

В пубертатный период (у мышей он длится с 4-й по 6-ю неделю) происходит интенсивная пролиферация клеток системы протока молочной железы. Деление клеток находится под контролем эстрогена и гормонов роста. Клетки секретирующих молоко альвеол на верхушках протоков еще не дифференцированы, молоко не образуется.

Беременность

В период между пубертатной стадией и беременностью клетки молочной железы мыши не делятся и не дифференцируются. Со второй половины беременности ситуация меняется. Под действием гормонов эстрогена и прогестерона (источником последнего служит плацента) формируются новые протоки, а их дистальные клетки приобретают признаки секреторных клеток.

В клетках культивируемых молочных желез, изолированных у животного на средних сроках беременности, гранулярный эндоплазматический ретикулум и аппарат Гольджи развиты слабо и совсем не содержится казеиновых гранул. После добавления

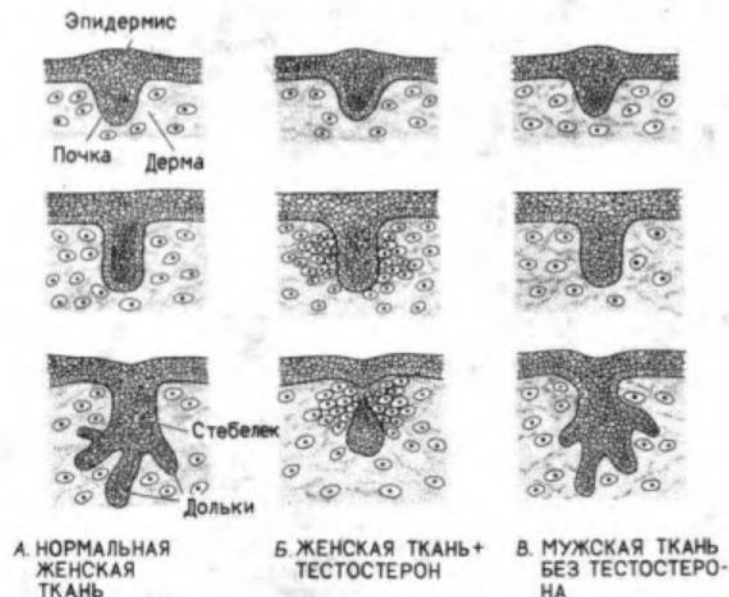


Рис. 19.28. Влияние тестостерона на отделение млечного тяжа. А. Млечная ткань самки мыши как *in vivo*, так и в культуре подрастает под эпидермис и ветвится. Б. Если млечная ткань самки мыши культивируется в присутствии тестостерона, то происходит удлинение почки, но вокруг ее формирующегося стебелька накапливаются мезенхимные клетки и его нижняя часть отделяется, как это происходит при нормальном развитии у самца. В. Если млечную ткань самца мыши культивировать без тестостерона, то раннее развитие зачатка молочной железы идет по женскому типу. (По Kratochwil, 1971.)

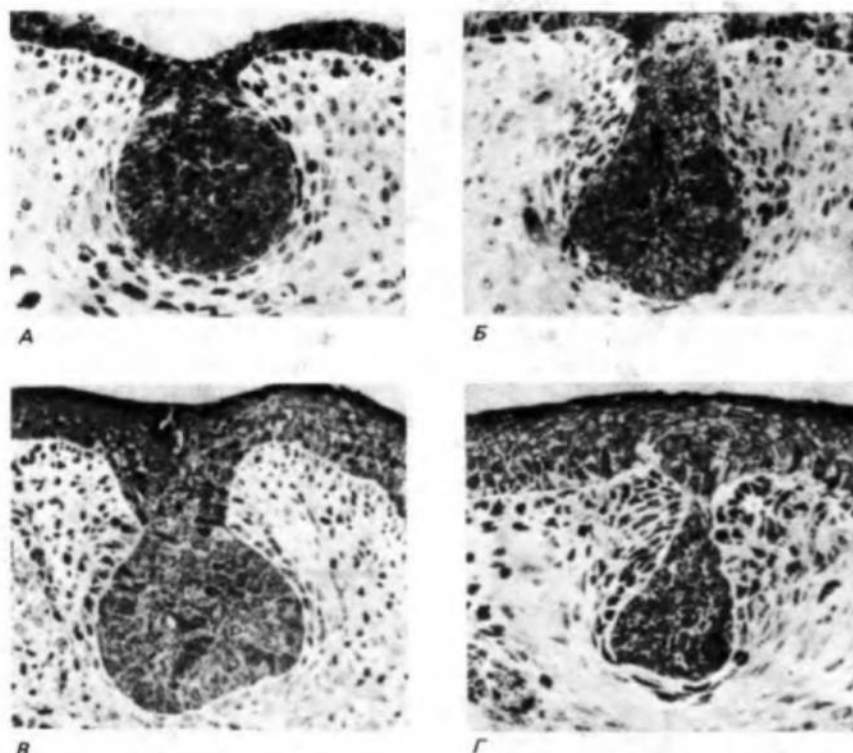


Рис. 19.29. Данные, свидетельствующие о том, что при остановке развития молочной железы мишенью для тестостерона служат мезенхимные клетки. А. Культивируемый зачаток молочной железы 14-дневного зародыша. Б. Зачаток молочной железы 14-дневного зародыша (самца), начавший реагировать на тестостерон. В. Реконбинантная почка молочной железы, состоящая из эпителиальных клеток дикого типа и нечувствительной к андрогену мезенхимы после культивирования с тестостероном. Мезенхимные клетки собираются в области стебелька почки. (Из Kratochwil, Schwarz, 1976; фотографии с любезного разрешения К. Kratochwil.)

в среду инсулина или другого стимулятора синтеза ДНК эти клетки приобретают чувствительность к другим гормонам (Turkington et al., 1965). Глюкокортикоиды способны индуцировать формирование гранулярного эндоплазматического ретикулума, а пролактин стабилизирует казеиновую мРНК, что обеспечивает синтез соответствующего молочного белка (рис. 19.30).

Таким образом, развитие молочной железы включает сложное взаимодействие нескольких гормонов на протяжении трех периодов онтогенеза — эмбрионального, пубертатного и беременности. Молочная железа никогда не развивается у нормальных самцов и никогда не становится дифференцированным органом у взрослых самок до наступления второй половины беременности.



Рис. 19.30. Схема, представляющая гормонзависимое развитие молочной железы in vitro. (По Turkington, 1968.)

Дополнительные сведения и гипотезы

Половое созревание как вариация на тему метаморфоза

У млекопитающих одно из наиболее ярких проявлений гормонального контроля дифференцировки наблюдается при половом созревании человека. Если понимать метаморфоз как процесс драматических изменений, сопровождающих переход ювенильного организма к зрелости — как половой, так и биохимической, — то в таком случае половое созревание человека можно рассматривать как разновидность метаморфоза. Результаты последних исследований свидетельствуют о том, что метаморфоз и половое созревание действительно обладают достаточным сходством. Стайн и Грумбах (Styne, Grumbach, 1978) дали превосходное определение процесса полового созревания:

«Половое созревание — период перехода от ювенильного состояния к взрослому; в течение этой стадии развития появляются и совершенствуются вторичные половые признаки, наблюдается вспышка роста, достигается половая зрелость, проявляются глубокие изменения в психике. Эти изменения прямо или косвенно являются результатом созревания гипоталамо-гипофизарной гонадотропной системы, стимулирующей половые органы и секрецию половых стероидов».

В самом деле, в это время происходят значительные изменения формы тела. В начале полового созревания мальчики и девочки характеризуются одинаковым соотношением мышечной массы, скелета и подкожного жира. К концу полового созревания скелетная и мышечная масса мужчин в 1,5 раза превосходит соответствующий показатель для женщин, тогда как у женщин накапливается почти вдвое больше жира (Forbes, 1975). Вторичные половые признаки¹ также развиваются в это время, означая переход от ювенильной формы к половозрелой. У женщин развитие молочных желез контролируется эстрогеном, секретируемым яичниками; у мужчин созревание пениса и семенников контролируется тестостероном, выделяемым семенниками. У обоих полов развитие волос на лобке и подмышками регулируется тестостероном, секретируемым семенниками у мужчин и надпочечниками у женщин. Мужчины также претерпевают тестостерон-зависимое увеличение гортани и связанных с ней мышц и хряща, делающее голос более низким. У обоих полов главные события полового созревания приходятся на пубертатный период. У женщин первое появление менструаций свидетельствует о новой интеграции

гормональных циклов, обеспечивающих высвобождение развивающегося яйца из яичника. Мужчины достигают половой зрелости, когда мужские половые клетки вступают в мейоз и формируется семявыносящий проток, по которому спермии проходят из семенников в уретру.

Гормональная основа полового созревания оказывается очень сходной с гормональной основой метаморфоза. И у амфибий, и у насекомых метаморфоз начинается с гормональных изменений, индуцированных нейрогормонами мозга (РФ-ТТГ и ПТТГ соответственно). Половое созревание обоих полов у человека инициируется **рилизинг-фактором лютеинизирующего гормона** (РФ-ЛГ), который выделяется гипоталамусом мозга (рис. 19.31). Как и РФ-ТТГ, этот фактор поступает из нейронов гипоталамуса в воронку (infundibulum) гипофиза. Затем РФ-ЛГ транспортируется по кровеносным сосудам гипофиза в его переднюю долю. Оказавшись в передней доле гипофиза, рилизинг-фактор вызывает выделение тропного гормона. У человека РФ-ЛГ высвобождает **лютеинизирующий гормон** (ЛГ) и **фолликулостимулирующий гормон** (ФСГ). Оба этих гормона называются **гонадотропинами**, поскольку они стимулируют развитие семенников у самцов и яичников у самок. В результате этой стимуляции гонады начинают секретировать **половые гормоны** — тестостерон выделяется семенниками, эстроген яичниками. Разнообразные морфологические и поведенческие изменения, сопровождающие половое созревание, как раз и являются следствием действия этих гормонов на различные ткани-мишени. Как и в случае метаморфоза, при половом созревании предполагается наличие гормона, ингибирующего созревание и обуславливающего в результате снижения своей активности реактивацию развития. Вероятным кандидатом на роль такого гормона у человека является мелатонин, концентрация которого в сыворотке крови снижается при повышении концентрации ЛГ (Waldhauser, Dietzel, 1985).

Каким образом происходит инициация полового созревания, остается пока загадкой. Однако Грумбах и др. (Grumbach et al., 1974) предложили следующий механизм такой индукции (рис. 19.32). Перед созреванием у ребенка секретируется небольшое количество РФ-ЛГ, в результате чего уровень циркулирующих ЛГ и ФСГ также очень низок. Поэтому гонады остаются незрелыми и секретируют незначительное количество тестостерона или эстрогена. Кроме того, гипоталамус, в высшей степени чувствительный к по-

¹ Первичные половые признаки — это наличие яичников и семенников. Развитие первичных половых органов подробно обсуждается в гл. 21.

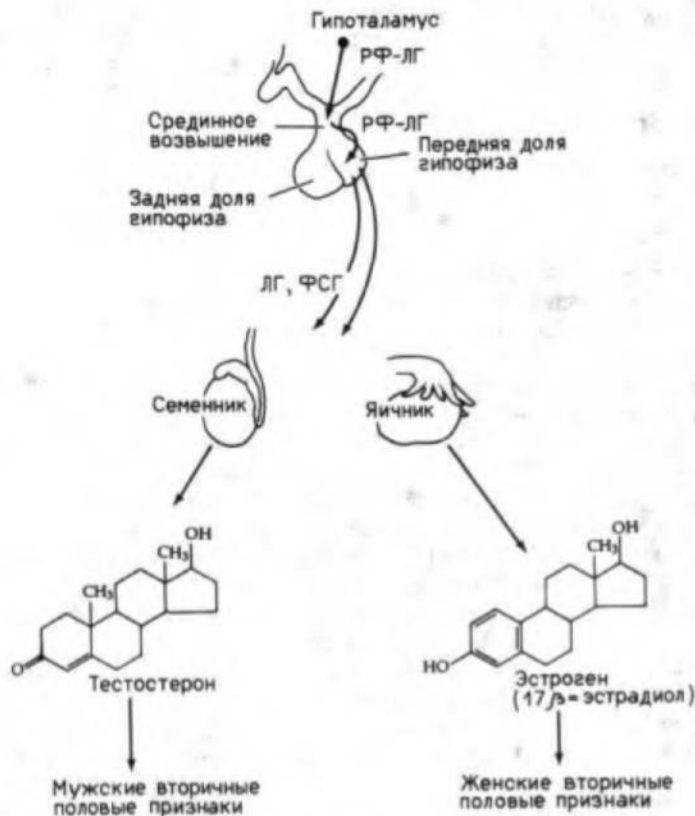


Рис. 19.31. Функционирование системы гипоталамус-гипофиз-гонады при развитии пола у млекопитающих. РФ-ЛГ – рилизинг-фактор лютеинизирующего гормона; ЛГ – лютеинизирующий гормон; ФСГ – фолликулостимулирующий гормон.

Уровень половых стероидов	Низкий	Неизменный	Как у взрослого
Обратная связь	Оперативна и чувствительна	Снижение чувствительности	Оперативна при уровне как у взрослого
Уровень гонадотропинов	Низкий	Повышается	Как у взрослого

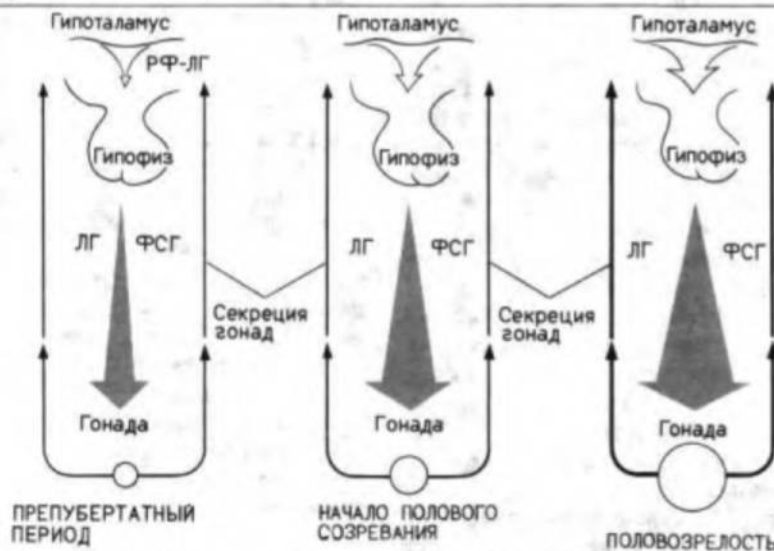


Рис. 19.32. Модель, объясняющая механизм индукции полового созревания у человека. Перед созреванием гипоталамус чувствителен к очень малым концентрациям половых стероидов и блокирует образование РФ-ЛГ, приостанавливая таким образом дальнейший синтез стероидных гормонов. Половые стероиды поддерживаются на низком уровне. По мере того как происходит половое созревание, чувствительность гипоталамуса к половым стероидам постепенно снижается, вследствие чего их синтез растет, пока не достигнет уровня взрослого организма. Относительная ширина стрелок указывает на уровень продукции гормона. (По Grumbach, 1974.)

ловым гормонам, включает продукцию РФ-ЛГ как только циркулирующие половые гормоны где-либо превысят свой и без того низкий уровень. Полагают, что начало созревания связано с созреванием гипоталамуса. В этот период гипоталамус становится менее чувствительным к отрицательной обратной связи с тестостероном и эстрогеном. В результате для выключения секреции РФ-ЛГ потребуется больше этих гормонов. (Эта ситуация аналогична изменению настройки термостата.) Таким образом, гипоталамус выделяет больше РФ-ЛГ, а это влечет за собой

дальнейшую дифференцировку гонад и высвобождение все больших количеств тестостерона и эстрогена. Это в свою очередь вызывает развитие вторичных половых признаков.

Итак, нетрудно убедиться в том, что половое созревание — гормонально контролируемая реакция развития, приводящая к морфологическим и физиологическим изменениям организма. Как таковая, она имеет много общего с изменениями при метаморфозе, который широко распространен в животном царстве.

Таким образом, мы убедились в том, что диффундирующие вещества играют важную роль как в регуляции межклеточных взаимодействий, так и в регуляции развития. Изучая реактивацию развития в процессе метаморфоза, мы можем определить конкретную роль гормонов в становлении нового характера дифференцировки и морфогенеза. Помимо этого, мы можем проследить взаимодействия между развитием организма и экосистемы, частью которой он является. В следующей главе мы рассмотрим роль диффундирующих факторов в процессах, ответственных за интегрированный рост организма.

ЛИТЕРАТУРА

- Alberch P., Alberch J. (1981). Heterochronic mechanisms of morphological diversification and evolutionary change in the neotropical salamander *Bolitoglossa occidentalis* (Amphibia: Plethodontidae). *J. Morphol.*, **167**, 249–264.
- Allen B.M. (1916). Extirpation experiments in *Rana pipiens* larva. *Science*, **44**, 755–757.
- Alley K.E., Barnes M.D. (1983). Birthdates of trigeminal motor neurons and metamorphic reorganization of the jaw myoneural system in frogs. *J. Comp. Neurol.*, **218**, 395–405.
- Begon M., Harper J.L., Townsend C.R. (1986). *Ecology: Individuals, Populations, and Communities*, Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Bern H.A., Nicoll C.S., Strohman R.C. (1967). Prolactin and tadpole growth. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **126**, 518–521.
- Bhaskaran G., Jones G., Jones D. (1980). Neuroendocrine regulation of corpus allatum activity in *Manduca sexta*: Sequential neurohormonal and nervous inhibition in the last instar larva. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**, 4407–4411.
- Bowers W.S., Ohta T., Cleere J.S., Marsella P.A. (1976). Discovery of insect anti-juvenile hormones in plants. *Science*, **193**, 542–547.
- Brian M.V. (1980). Social control over sex and caste in bees, wasps and ants. *Biol. Rev.*, **55**, 379–415.
- Brooks W.K. (1880). The development of the American oyster. *Studies Biol. Lab. Johns Hopkins Univ.*, **1**, 1–81.
- Brown P.S., Frye B.E. (1969). Effect of prolactin and growth hormone on growth and metamorphosis of tadpoles of the frog, *Rana pipiens*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **13**, 139–145.
- Butenandt A., Karlson P. (1954). Über die Isolierung eines Metamorphosen-Hormons der Insekten in kristallisierter Form. *Z. Naturforsch., Teil B*, **9**, 389–391.
- Cameron R.A., Hinegardner R.I. (1974). Initiation of metamorphosis in laboratory-cultured sea urchins. *Biol. Bull.*, **146**, 335–342.
- Cohen P.P. (1970). Biochemical differentiation during amphibian metamorphosis. *Science*, **168**, 533–543.
- Cohen P.P., Brucker R.F., Morris S.M. (1978). Cellular and molecular aspects of thyroid-hormone action during amphibian metamorphosis. *Horm. Proteins Peptides*, **6**, 273–381.
- Grew M.D., Spindler S.R. (1986). Thyroid hormone regulation of transfected rat growth hormone promoter. *J. Biol. Chem.*, **261**, 5018–5022.
- Currie J., Cowan W.M. (1974). Evidence for the late development of the uncrossed retinohypothalamic projections in the frog *Rana pipiens*. *Brain Res.*, **71**, 133–139.
- De Beer G. (1940). *Embryos and Ancestors*, Clarendon Press, Oxford.
- del Pino E.M., Elinson R.P. (1983). A novel development pattern for frogs: Gastrulation produces an embryonic disk. *Nature*, **306**, 589–591.
- Dürnberger H., Kratochwil K. (1980). Specificity of tissue interaction and origin of mesenchymal cells in the androgen response of the embryonic mammary gland. *Cell*, **19**, 465–471.
- Eberhardt M.K., Ring J.C., Johnson L.K., Latham K.R., Aprillett J.W., Kitsis R.N., Baxter J.D. (1979). Regulation of activity of chromatin receptors for thyroid hormone — possible involvement of histone-like proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 5005–5009.
- Eisen A.Z., Gross J. (1965). The role of epithelium and mesenchyme in the production of a collagenolytic enzyme and a hyaluronidase in the anuran tadpole. *Dev. Biol.*, **12**, 408–418.
- Elinson R.P. (1987). Change in developmental patterns: Embryos of amphibians with large eggs. In: R.A. Raff and E.C. Raff (eds.), *Development as an Evolutionary Process*, A.R. Liss, New York, pp. 1–21.
- Etkin W. (1968). Hormonal control of amphibian metamorphosis. In: W. Etkin and L.I. Gilbert (eds.), *Metamorphosis: A Problem in Developmental Biology*, Appleton-Century-Crofts, New York, pp. 313–348.
- Etkin W., Gona A.G. (1967). Antagonism between prolactin and thyroid hormone in amphibian development. *J. Exp. Zool.*, **165**, 249–258.
- Fallon J.F., Simandl B.K. (1978). Evidence of a role for cell death in the disappearance of the embryonic human tail. *Am. J. Anat.*, **152**, 111–130.
- Forbes G.B. (1975). Puberty: Body composition. In: S.R. Berenson (ed.), *Puberty*, Stenfort-Kroese, Leiden, pp. 132–145.
- Forehand C.J., Farel P.B. (1982). Spinal cord development in anuran larvae. I. Primary and secondary neurons. *J. Comp. Neurol.*, **209**, 386–394.
- Fox H. (1973). Ultrastructure of tail degeneration in *Rana temporaria* larva. *Folia Morphol.*, **21**, 103–112.
- Frieden E. (1981). The dual role of thyroid hormones in

- vertebrate development and carcinogenesis. In: L. I. Gilbert and E. Frieden (eds.), *Metamorphosis: A Problem in Developmental Biology*, Plenum, New York, pp. 545-564.
- Fristrom J. W., Fristrom J. W. (1975). The mechanisms of evagination of imaginal disks of *Drosophila melanogaster*. I. General considerations. *Dev. Biol.*, **43**, 1-23.
- Fristrom J. W. (1972). The biochemistry of imaginal disc development. In: H. Ursprung and R. Nothiger (eds.), *The Biology of Imaginal Discs*, Springer-Verlag, Berlin, pp. 109-154.
- Fristrom J. W., Fristrom D., Fekete E., Kuniyuki A. H. (1977). The mechanism of evagination of imaginal discs of *Drosophila melanogaster*. *Am. Zool.*, **17**, 671-684.
- Geigy R. (1941). Die metamorphose als Folge gewebsspezifischer determination. *Rev. Suisse Zool.*, **48**, 483-494.
- Gilbert L. I., Goodman W. (1981). Chemistry, metabolism, and transport of hormones controlling insect metamorphosis. In: L. I. Gilbert and E. Frieden (eds.), *Metamorphosis: A Problem in Developmental Biology*, Plenum, New York, pp. 139-176.
- Goos H. J. Th. (1978). Hypophysiotropic centers in the brain of amphibians and fish. *Am. Zool.*, **18**, 401-410.
- Gould S. J. (1977). *Ontogeny and Phylogeny*, Harvard University Press, Cambridge, MA, p. 283.
- Graham C. F., Wareing P. F. (1976). *The Developmental Biology of Plants and Animals*, Saunders, Philadelphia.
- Granger N. A., Bollenbacher W. E. (1981). Hormonal control of insect metamorphosis. In: L. I. Gilbert and E. Frieden (eds.), *Metamorphosis: A Problem in Developmental Biology*, Plenum, New York, pp. 105-138.
- Grant W. C., Jr., Cooper G. (1964). Endocrine control of metamorphic and skin changes in *Diemictylus viridescens*. *Am. Zool.*, **4**, 413-414.
- Grant W. C., Grant J. A. (1958). Water drive studies on hypophysectomized efts of *Diemictylus viridescens*, Part I. The role of the lactogenic hormone. *Biol. Bull.*, **114**, 1-9.
- Grobstein P. (1987). On beyond neuronal specificity: Problems in going from cells to networks and from networks to behavior. In: P. Shinkman (ed.), *Advances in Neural and Behavioral Development*, Vol. 3, Ablex, pp. 1-58.
- Grumbach M. M., Roth J. C., Kaplan S. L., Kelch R. P. (1974). Hypothalamic-pituitary regulation of puberty in man: Evidence and concepts derived from clinical research. In: M. M. Grumbach, G. D. Grave and F. E. Meyer (eds.), *Control of the Onset of Puberty*, Wiley, New York, p. 115-166.
- Gudernatsch J. F. (1912). Feeding experiments on tadpoles. I. The influence of specific organs given as food on growth and differentiation. A contribution to the knowledge of organs with internal secretion. *Wilhelm Roux Arch. Entwicklungs-mech. Org.*, **35**, 457-483.
- Hadfield M. G. (1977). Metamorphosis in marine molluscan larvae: An analysis of stimulus and response. In: R.-C. Chia and M. E. Rice (eds.), *Settlement and Metamorphosis of Marine in Vertebrate Larvae*, Elsevier, New York, pp. 165-175.
- Highsmith R. C. (1982). Induced settlement and metamorphosis of sand dollar (*Dendraster excentricus*) larvae in predator-free sites: Adult sand dollar beds. *Ecology*, **63**, 329-337.
- Hinegardner R. T. (1969). Growth and development of the laboratory cultured sea urchin. *Biol. Bull.*, **137**, 465-475.
- Hogg N. A. S., Harrison D. J., Tickle C. (1983). Lumen formation in the mammary gland. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **73**, 39-57.
- Hoskins E. R., Hoskins M. M. (1917). On thyroidectomy in amphibia. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **14**, 74-75.
- Hoskins S. G., Grobstein P. (1984). Thyroxine induces the ipsilateral retinohthalamic projection in *Xenopus laevis*. *Nature*, **307**, 730-733.
- Hoskins S. G., Grobstein P. (1985a). Development of the ipsilateral retinohthalamic projection in the frog *Xenopus laevis*. II. Ingrowth of optic nerve fibers and production of ipsilaterally cells. *J. Neurosci.*, **5**, 920-929.
- Hoskins S. G., Grobstein P. (1985b). Development of the ipsilateral retinohthalamic projection in the frog *Xenopus laevis*. III. The role of thyroxine. *J. Neurosci.*, **5**, 930-940.
- Huxley J. (1920). Metamorphosis of axolotl caused by thyroid feeding. *Nature*, **104**, 436.
- Kaltenbach J. C., Fry A. E., Leius V. K. (1979). Histochemical patterns in the tadpole tail during normal and thyroxine-induced metamorphosis. II. Succinic dehydrogenase, Mg- and Ca-adenosine triphosphatases, thiamine pyrophosphatase, and 5' nucleotidase. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **38**, 111-126.
- Karp G., Berrill N. J. (1981). *Development*, McGraw-Hill, New York.
- Kistler A., Yoshizato K., Frieden E. (1977). Preferential binding of tri-substituted thyronine analogs by bullfrog tadpole tail fin cytosol. *Endocrinology*, **100**, 134-137.
- Kollros J. J. (1961). Mechanisms of amphibian metamorphosis: Hormones. *Am. Zool.*, **1**, 107-114.
- Kratochwil K. (1971). In vitro analysis of the hormonal basis for sexual dimorphism in the embryonic development of the mouse mammary gland. *J. Embryol. Exp. Morph.*, **25**, 141-153.
- Kratochwil K., Schwartz P. (1976). Tissue interaction in androgen response of embryonic mammary rudiment of mouse: Identification of target tissue for testosterone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **73**, 4041-4044.
- Little G., Atkinson B. G., Frieden E. (1973). Changes in the rates of protein synthesis and degradation in the tail of *Rana catesbeiana* tadpoles during normal metamorphosis. *Dev. Biol.*, **30**, 366-373.
- Lyman D. F., White B. A. (1987). Molecular cloning of hepatic mRNAs in *Rana catesbeiana* response to thyroid hormone during induced and spontaneous metamorphosis. *J. Biol. Chem.*, **262**, 5233-5237.
- Lynn W. G., Peardon A. M. (1955). The role of the thyroid gland in direct development of the anuran *Eleutherodactylus martinicensis*. *Growth*, **19**, 263-286.
- Madhavan M. M., Schneiderman H. A. (1977). Histological analysis of the dynamics of growth of imaginal discs and histioblast nests during the larval development of *Drosophila melanogaster*. *Wilhelm Roux Arch. Dev. Biol.*, **183**, 269-305.
- Malacinski G. M. (1978). The Mexican axolotl, *Ambystoma mexicanum*: Its biology and developmental genetics, and its autonomous cell-lethal genes. *Am. Zool.*, **18**, 195-206.
- Martin F. D., Drewry G. E. (1978). *Development of Fishes of the Mid-Atlantic Bight*, Vol. 6, U. S. Department of the Interior, Washington, DC.
- Mathison P. M., Miller L. (1987). Thyroid hormone induction of keratin genes: A two-step activation of gene expression during development. *Genes Dev.*, **1**, 1107-1117.
- McCutcheon F. H. (1936). Hemoglobin function during the life history of the bullfrog. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **8**, 63-81.
- Meuse B. J. D. (1961). *The Story of Pollination*, Ronald Press, New York, pp. 161-171.
- Mori M., Morris S. M., Jr., Cohen P. P. (1979). Cell-free translation and thyroxine induction of carbamylphosphate synthetase I messenger RNA in tadpole liver. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 3179-3183.
- Nijhout H. F., Williams C. M. (1974). Control of moulting and metamorphosis in the tobacco hornworm, *Manduca sexta*: Cessation of juvenile hormone secretion as a trigger for pupation. *J. Exp. Biol.*, **61**, 493-501.
- Niki K., Namiki H., Kikuyama S., Yoshizato K. (1982). Epidermal tissue requirement for tadpole tail regression induced by thyroid hormone. *Dev. Biol.*, **94**, 116-120.
- Norris D. O., Jones R. E., Criley B. B. (1973). Pituitary prolactin levels in larval, neonatal, and metamorphosed salamanders

- (*Ambystoma tigrinum*), Gen. Comp. Endocrinol., **20**, 437-442.
- Pehrson J. R., Cohen L. H. (1986). The fate of the small micromeres in sea urchin development, Dev. Biol., **113**, 522-526.
- Plowright R. C., Pendrel B. A. (1977). Larval growth in bumblebees, Can. Entomol., **109**, 967-973.
- Prahlad K. V., Delaney L. E. (1965). A study of induced metamorphosis in the axolotl, J. Exp. Zool., **160**, 137-146.
- Pratt G. E., Jennings R. C., Hammett A. F., Brooks G. T. (1980). Lethal metabolism of precocene-I to a reactive epoxide by locust corpora allata, Nature, **284**, 320-323.
- Procter M., Yeo P. (1972). The Pollination of Flowers, Taplinger, New York, pp. 243-251.
- Raff R. A. (1987). Constraint, flexibility, and phylogenetic history in the evolution of direct development in sea urchins, Dev. Biol., **119**, 6-19.
- Raynaud A. (1961). Morphogenesis of the mammary gland. In: S. K. Kon and A. T. Cowrie (eds.), Milk: The Mammary Gland and Its Secretion, Vol. I, Academic, New York, pp. 3-46.
- Richards G. (1978). Sequential gene activity in polytene chromosomes of *Drosophila melanogaster*. VI. Inhibition by juvenile hormones, Dev. Biol., **66**, 32-42.
- Riggs A. F. (1951). The metamorphosis of hemoglobin in the bullfrog, J. Gen. Physiol., **35**, 23-40.
- Robinson H., Chaffee S., Galton V. A. (1977). Sensitivity of *Xenopus laevis* tadpole tail tissue to the action of thyroid hormones, Gen. Comp. Endocrinol., **32**, 179-186.
- Rountree D. B., Bollenbacher W. E. (1986). The release of the prothoracicotropic hormone in the tobacco hornworm, *Manduca sexta*, is controlled intrinsically by juvenile hormone, J. Exp. Biol., **120**, 41-58.
- Safranek L., Williams C. M. (1984). Critical weights for metamorphosis in the tobacco hornworm, *Manduca sexta*, Biol. Bull., **167**, 555-567.
- Schooneveld H. (1979). Precocene-induced collapse and resorption of corpora allata in nymphs of *Locusta migratoria*, Experientia, **35**, 363-364.
- Schwind J. L. (1933). Tissue specificity at the time of metamorphosis in frog larvae, J. Exp. Zool., **66**, 1-14.
- Smith-Gill S. J., Carver V. (1981). Biochemical characterization of organ differentiation and maturation. In: L. I. Gilbert and E. Frieden (eds.), Metamorphosis: A Problem in Developmental Biology, Plenum, New York, pp. 491-544.
- Strathmann R. R. (1971). The feeding behavior of planktotrophic echinoderm larvae: Mechanisms, regulation and rates of suspension feeding, Exp. Mar. Biol. Ecol., **6**, 109-160.
- Strathmann R. R. (1975). Larval feeding in echinodermata, Am. Zool., **15**, 717-730.
- Strause L. G., DeLuca M., Case J. F. (1979). Biochemical and morphological change accompanying light organ development in the firefly, *Photuris pennsylvanica*, J. Insect Physiol., **125**, 339-347.
- Styne D. M., Grumbach M. M. (1978). Puberty in the male and female: Its physiology and disorders. In: S. S. C. Yen and R. B. Jaffe (eds.), Reproductive Endocrinology, Saunders, Philadelphia, pp. 189-240.
- Taigen T. L., Plough F. H., Stewart M. M. (1984). Water balance of terrestrial anuran (*Eleutherodactylus coqui*) eggs: Importance of paternal care, Ecology, **65**, 248-255.
- Taurog A., Oliver C., Porter R. L., McKenzie J. C., McKenzie J. M. (1974). The role of TRH in the neoteny of the Mexican axolotl (*Ambystoma mexicanum*), Gen. Comp. Endocrinol., **24**, 267-279.
- Topper Y. J., Freeman C. S. (1980). Multiple hormone interactions in the developmental biology of the mammary gland, Physiol. Rev., **60**, 1049-1106.
- Truman J. W., Weeks J., Levine R. B. (1985). Developmental plasticity during the metamorphosis of an insect nervous system. In: M. J. Cohen and F. Strumwasser (eds.), Comparative Neurobiology, Wiley, New York, pp. 25-44.
- Turkington R. W. (1968). Hormone-dependent differentiation of mammary gland in vitro, Curr. Top. Dev. Biol., **3**, 199-218.
- Turkington R. W., Juergens W. G., Topper Y. J. (1965). Hormone-dependent synthesis of case in vitro, Biochem. Biophys. Acta, **111**, 573-576.
- Turner C. D., Bagnara J. T. (1976). General Endocrinology, 6th Ed., Saunders, Philadelphia.
- Wald G. (1945). The chemical evolution of vision, Harvey Lect., **41**, 117-160.
- Wald G. (1981). Metamorphosis: An overview. In: L. I. Gilbert and E. Frieden (eds.), Metamorphosis: A Problem in Developmental Biology, Plenum, New York, pp. 1-39.
- Waldhauser F., Dietzel M. (1985). Daily and annual rhythms in human melatonin secretion: Role in puberty control, Ann. N. Y. Acad. Sci., **453**, 205-214.
- Weber R. (1965). Inhibitory effect of actinomycin D on tail atrophy in *Xenopus laevis* larvae at metamorphosis, Experientia, **21**, 665-666.
- Weber R. (1967). Biochemistry of amphibian metamorphosis. In: R. Weber (ed.), The Biochemistry of Animal Development, Vol. 3, Academic, New York, pp. 227-301.
- Weinberger C., Thompson C. C., Ong E. S., Lebo R., Gruol D. J., Evans R. M. (1986). The *c-erb-A* gene encodes a thyroid hormone receptor, Nature, **324**, 641-646.
- White B. H., Nicoll C. S. (1981). Hormonal control of amphibian metamorphosis. In: L. I. Gilbert and E. Frieden (eds.), Metamorphosis: A Problem in Developmental Biology, Plenum, New York, pp. 363-396.
- Williams C. M. (1952). Physiology of insect diapause. IV. The brain and prothoracic glands as an endocrine system in the *Cecropia* silkworm, Biol. Bull., **103**, 120-138.
- Williams C. M. (1956). The juvenile hormone of insects, Nature, **178**, 212-213.

Глава 20

Рост и онкогенез

*Завиток папоротника
И пурпурная раковина в море;
Во всем этом звучит музыка.*

КЕННЕТ РЕКСРОТ (1952)

Сочетание столь многих видов животных в некой общей схеме, основанной не только на строении их скелета, но также и на организации других частей, где все многообразие видов может быть задано удивительной простотой фундаментального плана — подавлением развития одной части и более детальной проработкой другой, удлинением в данный момент этой части при укорочении иной — дает по крайней мере проблеск надежды на то, что, поняв основы принципиального механизма, без которого невозможна никакая наука о природе, можно добиться каких-либо успехов.

ЭММАНУИЛ КАНТ (1790)

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ РОСТА

Проблемы роста: физические пределы роста

В отличие от новых машин, которые могут бездействовать до тех пор, пока не сойдут со сборочного конвейера, новые организмы обязаны функционировать в процессе своего развития. Клетки зародыша должны поглощать питательные вещества, метаболизировать их и выделять конечные продукты обмена в течение всего периода своего развития. Необходимость этих процессов накладывает строгие ограничения на характер роста животного. Увеличение размеров достигается не просто, поскольку рост может включать изменения, несовместимые с жизнью. Рост животных представляет собой некий компромисс между увеличивающимися размерами и потребностями всех клеток в кислороде и питательных веществах.

Одно из основных ограничений роста — это отношение поверхности к объему. Если животное становится крупнее, но при этом сохраняет старую форму, то площадь его поверхности (имеющая большое значение для поглощения кислорода и питательных веществ) уменьшается по отношению к его

новому объему. Происходит это потому, что площадь изменяется пропорционально длине во второй степени (L^2), тогда как объем — пропорционально длине в третьей степени (L^3). Представим себе гипотетическое животное, радиус которого составляет 4 единицы; площадь поверхности этого животного будет равна 200 кв. ед. ($4\pi r^2$), а объем — 268 куб. ед. ($\frac{4}{3}\pi r^3$). Отношение поверхности к объему составит 0,74. Если длина этого животного удвоится и его радиус увеличится до 8 ед., то новая площадь поверхности будет равна 804 кв. ед., а объем — 2143 куб. ед. Новое отношение поверхности к объему будет равно 0,37, т.е. в два раза меньше прежнего. Еще одно удвоение размеров вновь уменьшит наполовину отношение поверхности к объему. Таким образом, перед нами фундаментальный закон, которому подчиняются все растущие организмы: если размеры животного увеличиваются в два раза, то отношение площади его поверхности к объему уменьшается тоже в два раза.

Иначе говоря, отношение площадь : объем означает, что при увеличении размеров тела и сохранении той же формы объем растет быстрее, чем площадь поверхности. Для любого организма (в

том числе и развивающегося зародыша) обеспечение пищей и кислородом зависит от диффузии через адсорбирующие поверхности. По закону диффузии Фика поток данного вещества в некую емкость (например, в клетку) прямо пропорционален площади контакта с этим веществом. Каким же образом происходит рост организма? Одно из стратегических решений заключается в том, чтобы стать более широким или плоским; это позволяет увеличить площадь контакта с кислородом и питательными веществами и сократить для поступающих веществ путь от поверхности в глубь тела. Такая стратегия используется плоскими червями, которые (в случае ленточных червей) могут вырастать в длину до 12 м, но высота которых не превышает нескольких миллиметров. Другое стратегическое решение сводится к формированию тела в виде полой трубки, что также позволяет клеткам контактировать с питательными веществами. Эта стратегия используется многими кишечнорастворимыми, например коралловыми полипами.

Наиболее удачной стратегией, позволяющей обойти рассматриваемую нами проблему, оказалась инвагинация. Легкие и кишечник представляют собой инвагинировавшие области наружной поверхности, которые, впячиваясь, разветвляются или образуют изгибы, обеспечивающие большую площадь для поглощения кислорода и питательных веществ. Эта модификация формы организма часто сопровождается использованием другого стратегического подхода — внутренней циркуляции. В этом случае питательные вещества попадают внутрь тела, в результате чего диффузия в большей степени происходит изнутри организма, а не снаружи. Этот процесс сопровождается развитием кровеносной системы. Но и в развитии кровеносной системы возникают проблемы, связанные с размерами. В соответствии с законами движения жидкости наиболее эффективно осуществляется транспорт через трубки большого диаметра. По мере уменьшения радиуса кровеносного сосуда сопротивление току жидкости в нем возрастает как r^{-4} (закон Пуазейля). Иначе говоря, если один из двух сосудов имеет в два раза меньший диаметр, то сопротивление току жидкости в этом сосуде будет в 16 раз больше, чем в другом. И тут возникает парадоксальная ситуация. Если условием, благоприятствующим диффузии, является уменьшение диаметра сосудов, то законы гидравлики требуют их расширения. Живые организмы решают это противоречие путем развития системы кровообращения, характеризующейся иерархией кровеносных сосудов (LaBarbera, 1990). Эта иерархия возникает на ранних этапах эмбриогенеза, например у куриного зародыша она наблюдается в возрасте 3 сут. У собак в крупных сосудах (в аорте или полой вене) кровь течет в 100 раз

быстрее, нежели в капиллярах. Благодаря наличию крупных сосудов, специализированных для транспорта, и мелких, специализированных для диффузии (где кровь задерживается на наиболее длительное время), питательные вещества и кислород достигают отдельных клеток растущего организма.

Но это еще не все. Если жидкость, находящаяся под давлением, из трубки большого диаметра попадает прямо в трубку меньшего диаметра (как в наконечнике брандспойта), то ее скорость резко возрастает. Решением этой проблемы стало возникновение многочисленных сосудов меньшего диаметра, на которые распадается больший сосуд, в результате чего общая площадь поперечного сечения мелких сосудов оказывается больше площади крупного. Это отношение (известное как закон Муррея) выражается в том, что третья степень радиуса исходного сосуда примерно равна сумме третьих степеней радиусов меньших сосудов. Приведенный пример свидетельствует о том, как физические свойства материи ограничивают пути эволюции животных. Если животное не имеет системы кровообращения, то оно должно стать либо плоским, либо трубчатым. В случае развития кровеносной системы ее строение определяется законами гидравлики, в соответствии с которыми сосуды различного диаметра распределяются в виде ответвлений. Вместе с тем невозможно представить себе существование цилиндра протоплазмы длиной 1,5 м и диаметром 10 см, в который постепенно сливались бы части тела человека или медведя. Это противоречило бы законам диффузии. Зародыши губок, кишечнорастворимых и плоских червей развиваются в организмы, жизнедеятельность которых обеспечивается только диффузией материала из окружающей среды. Более специализированные животные приобрели способы доставки пищи и кислорода внутрь тела, избегая тем самым ограничений в росте, которые накладывает простая диффузия.

При развитии животных возникают и другие препятствия, связанные с увеличением размеров тела. Способность кости служить опорой для тяжелой конструкции пропорциональна площади ее поперечного сечения (L^2). Вес, однако, возрастает пропорционально объему организма (L^3). Поэтому животное, выросшее в два раза по сравнению с первоначальными размерами, должно иметь конечности, способные выдержать вес, увеличившийся в 8 раз. Если же оно вырастет в 4 раза, то на его конечности будет приходиться вес, в 64 раза превышающий первоначальный, и если форма костей при этом не изменится, то их дефинитивный скелет не сможет служить опорой для растущего тела. Впервые на это обратил внимание Галилей в своих «Трактатах» (которые он писал во время домашнего ареста в 1638 г.). Он усомнился в том, что кости крупных

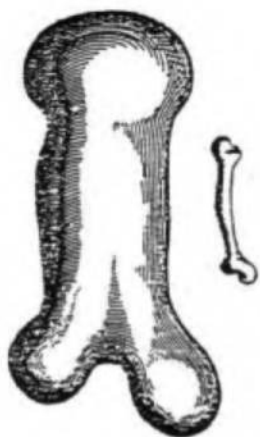


Рис. 20.1. Рисунок Галилея, изображающий одну и ту же кость (бедро) от животных различных размеров. При том, что длина костей различается примерно в 2,5 раза, их ширина различается примерно в 10 раз.

животных должны утолщаться относительно своей длины так же, как кости более мелких животных (рис. 20.1). Если бы кости крупных животных формировались в соответствии с тем же самым отношением высоты к их диаметру, что и кости мелких животных (**изометрический рост**), то они не смогли бы выдержать увеличивающегося веса. Поэтому по мере роста организма это отношение должно уменьшаться. Такой рост, характеризующийся дифференциальной скоростью (т.е. когда площадь поперечного сечения кости растет быстрее, чем высота животного), называется **аллометрическим ростом**.

В процессе роста все структуры животного — всасывающие поверхности, кровеносная система и скелет — подвергаются интенсивной перестройке. Дж. Б. Холдейн был совершенно прав, когда писал, что «сравнительная анатомия — это в большой степени история борьбы за увеличение поверхности по отношению к объему».

Изометрический рост

Закон линейного роста Брукса

Рост большинства организмов происходит путем включения нового материала в существующие ткани тела. При этом организм увеличивает свой объем, сохраняя те же пропорции. Основываясь на рассуждениях, изложенных выше, можно заключить, что теоретически животное, увеличившее свой вес вдвое, увеличит длину всего лишь в 1,26 раза (поскольку $1,26^3 = 2$). Рост с подобной скоростью часто наблюдается в природе. Брукс отмечал (Brooks, 1886), что длина некоторых глубоководных членистоногих, собранных экспедицией «Челленджера»,

увеличивалась между двумя последующими линьками примерно в 1,25 раза. В 1904 г. Пржибрам (Przibram, 1904) и его коллеги провели исследование на богомолах. Вылупляющихся в лаборатории богомолов взвешивали после каждой линьки. Было обнаружено, что вес каждой особи в промежутке между двумя линьками удваивался. Сброшенный экзоскелет также собирали. При сравнении длины определенного сегмента (например, голени) оказалось, что коэффициент увеличения размеров между линьками равен 1,26. Даже гексагональные фасетки глаза насекомых (которые увеличиваются без размножения клеток) изменяют свой диаметр между линьками в 1,26 раза. Другие линяющие членистоногие, например крабы, омары, сверчки и вши, также подчиняются этому правилу (известному под названием **закона Брукса**), согласно которому увеличение веса в два раза сопровождается возрастанием длины в 1,26 раза.

Следовательно, если длина растущего организма увеличивается в два раза при сохранении его формы неизменной, то объем организма (вес) увеличивается в восемь раз. Эти расчеты применимы не только к кубам, но и к любым другим фигурам. В соответствии с указанным отношением зародыш (или любой растущий организм) удваивает свой вес, вырастая от 10 до 12,5 см. Наблюдения, проведенные над растущими организмами, подтверждаются математическим анализом роста.

Логарифмическая спираль

Рост животного в ограниченном пространстве, например в раковине, в простейшем случае представляет собой расширение и удлинение в одном и том же отношении в течение всей жизни этого животного. В результате такого роста формируется либо конус, либо логарифмическая спираль. По определению Томпсона (Thompson, 1942), такой спиралью является «любая кривая, исходящая из фиксированной точки... таким образом, что отрезки ее дуги, расположенные между двумя любыми радиусами под данным углом друг к другу, всегда подобны». Иллюстрацией служат рис. 20.2 и 20.3. Логарифмическая спираль может увеличиваться сколь угодно долго, но при этом она никогда не изменит своей формы. Небольшая логарифмическая спираль имеет те же пропорции, что и большая, если сохраняется первоначальный угол. Уравнение для такой спирали имеет вид $r = a^{\theta}$.

Подобный тип роста характерен для животных, способных расти лишь с одного конца. Примером могут служить раковины, рога и когти. (Ногти у человека загивают, если вырастут слишком длинными; передние зубы грызунов могли бы задуть животное, заворачиваясь назад, если бы не

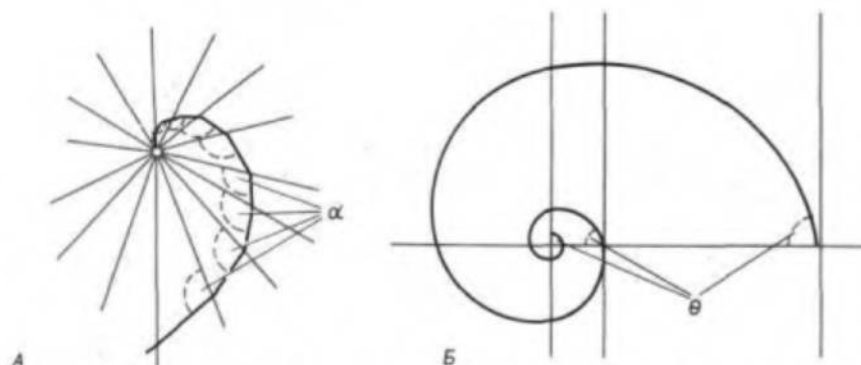


Рис. 20.2. Логарифмическая спираль. А. Логарифмическая спираль, образованная линией, пересекающей равномерно расположенные радиусы под одним и тем же углом α . Б. Декартов анализ логарифмической спирали, показывающий, что если растущая кривая пересекает радиус-вектор под одинаковым углом θ , то эта кривая может расти постоянно, не меняя своей формы. (По Thompson, 1942.)

сбивались от постоянного жевания.) По выражению Томпсона, «эта удивительная способность увеличения размеров путем терминального роста при сохранении формы всей фигуры неизменной характеризует только логарифмическую спираль и больше ни одну математическую кривую». Логарифмическая спираль чаще всего встречается в форме уплощенных раковин наutilusидных моллюсков, например у многокамерного наутилуса, поперечный срез раковины которого представлен на рис. 20.3. По мере роста наutilus строит у устья раковины



Рис. 20.3. Характер роста логарифмической спирали. Раковина наутилуса и бараний рог иллюстрируют рост логарифмической спирали. Раковина наутилуса (внизу) представлена в виде поперечного среза. Рост спирали бараньего рога происходит в двух плоскостях. Основание этих объектов представляет собой треугольник, ни одна из трех сторон которого не растет с одинаковой скоростью. В результате рог растет одновременно назад и наружу, при этом каждое его кольцо отражает продолжительность роста.

новую камеру, куда затем перемещается. Эта последняя камера служит моллюску жилищем, а старые, наполненные газом, обеспечивают плавучесть и подвижность животного. Остатки старых камер можно выявить по наличию септ (перегородок); эти септы отличают раковины наутилюсов от раковин других моллюсков.

Многие раковины имеют форму не спиралей, а просто куполов, или колпачков. Томпсон показал, что на самом деле эти раковины представляют собой части логарифмических спиралей, у которых углы претерпели поворот на 360° . В раковинах, подобных раковине наутилуса, можно измерить угол, под которым кривая роста пересекает радиусы. У большинства наутилюсов и брюхоногих этот угол составляет $80-85^\circ$. (Угол в 90° даст круг, и животное не сможет расти.) Угол многокамерных наутилюсов обычно равен 80° . Томпсон вывел формулу для расчета отношения ширины одного витка раковины к ширине другого¹. Некоторые величины, вычисленные по этой формуле, представлены в табл. 20.1. Воспользовавшись этой таблицей, можно, например, установить, что при ширине витка 2,54 см в данной точке радиуса и при угле 80° ширина следующего витка на этом же радиусе будет составлять 7,62 см. А если бы указанный угол составил 60° , то следующий виток на том же радиусе должен быть шириной 91,44 см, и соответственно при угле 17° расстояние, на котором произошел бы следующий виток, должно быть равно 24 135 км. Подобного рода кривые, образованные при низких углах и соответствующие отрезкам логарифмических спиралей, характеризуют некоторые раковины (преимущественно раковины двусторчатых моллюсков) и весьма обычны в случае зубов и когтей.

¹ Формула имеет вид: $r = e^{2\pi \cot \theta}$ (Thompson, 1942).

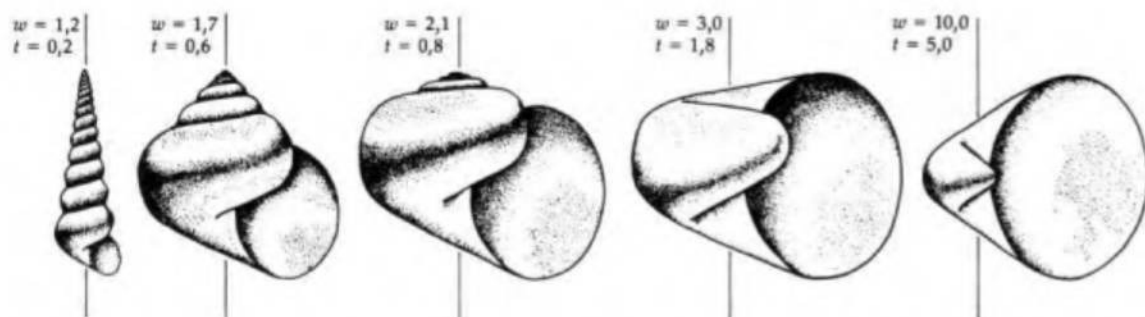


Рис. 20.4. Модели раковин гипотетических моллюсков, полученные с помощью компьютера. В этом ряду форм варьируют только два из четырех параметров – степень увеличения кривой (w) и степень ее смещения (t). (Из Raup, 1962.)

Таблица 20.1. Постоянный угол логарифмической спирали определяет отношение ширины соседних витков

Постоянный угол	Отношение ширины витков ¹
90°	1,0
89°8'	1,1
86°18'	1,5
83°42'	2,0
80°5'	3,0
75°38'	5,0
69°53'	10,0
64°31'	20
58°5'	50
53°46'	10 ²
42°17'	10 ³
34°19'	10 ⁴
28°37'	10 ⁵
24°28'	10 ⁶

Из Thompson, 1942.

¹ Отношение ширины есть результат деления ширины одного витка на ширину следующего, более широкого витка.

Анализ компьютерных кривых (Raup, 1962, 1966) показал, что рост более сложно устроенных раковин, встречающихся среди гастропод и пелелипод, может быть описан с помощью четырех параметров:

- w – степень расширения витков, описанная выше;
- t – степень продвижения витков вдоль оси y ; этот параметр служит показателем роста раковины в высоту по мере того, как кривая совершает спиралеобразные обороты;
- s – форма растущей кривой; этот параметр отражает контур растущего края раковины и представляет поперечное сечение полой трубки;
- d – положение кривой относительно ее оси; этот показатель в большой степени является функцией угла, при котором происходит рост кривой.

В целом форма спирали определяется параметрами¹ w и t . На рис. 20.4 представлены пять гипотетических раковин, полученных на основе компьютерных поперечных сечений. Изменялись только параметры w и t . Этот пример ясно свидетельствует о том, что путем изменения всего лишь одного параметра из упомянутых двух можно получить совершенно различные формы раковины моллюсков. На этом основании может быть установлено родство между различными типами раковин. На рис. 20.5 показано, каким образом от раковины гипотетической улитки можно вывести типы раковин, характеризующие различные группы моллюсков. В качестве исходной формы здесь взята раковина, встречающаяся в разнообразных таксономических группах. Если идти по пути смещения ее витка (от $t = 0$ до $t = 3$), то можно получить формы, характерные для обычных улиток. Вместе с тем, изменяя степень расширения витка от $w = 3,5$ до $w = 10^4$, можно сделать переход от однораковинных брюхоногих моллюсков к двустворчатым формам, обычным для гребешков и песчаных ракушек, а увеличив расстояние от оси закручивания до кривой (от $d = 0$ до $d = 0,3$), можно получить раковины более вытянутой формы.

В приведенных выше рассуждениях подразумевалось, что рост раковины остается постоянным в течение всей жизни животного. Однако это не так. У некоторых моллюсков происходят внезапные изменения скорости роста, часто коррелированные с изменением образа жизни животного (например, с переходом от планктонного, свободноплавающего

¹ Если r_0 – первоначальное расстояние точки A от оси, то r_θ – расстояние после θ оборотов – можно вычислить по формуле $r_\theta = r_0 w^{\theta/2\pi}$. Очевидно, что это значение зависит как от угла, под которым происходит расширение витка (w), так и от отношения расширения витка по оси x к его смещению по оси $y(t)$. В раковинах наутилоидов $t = 0$, тогда как в случае раковин гастропод и пелелипод в этом уравнении приобретает важное значение и параметр t . Отсюда $y_\theta = y_0 w^{\theta/2\pi} + rt(w^{\theta/2\pi} - 1)$.

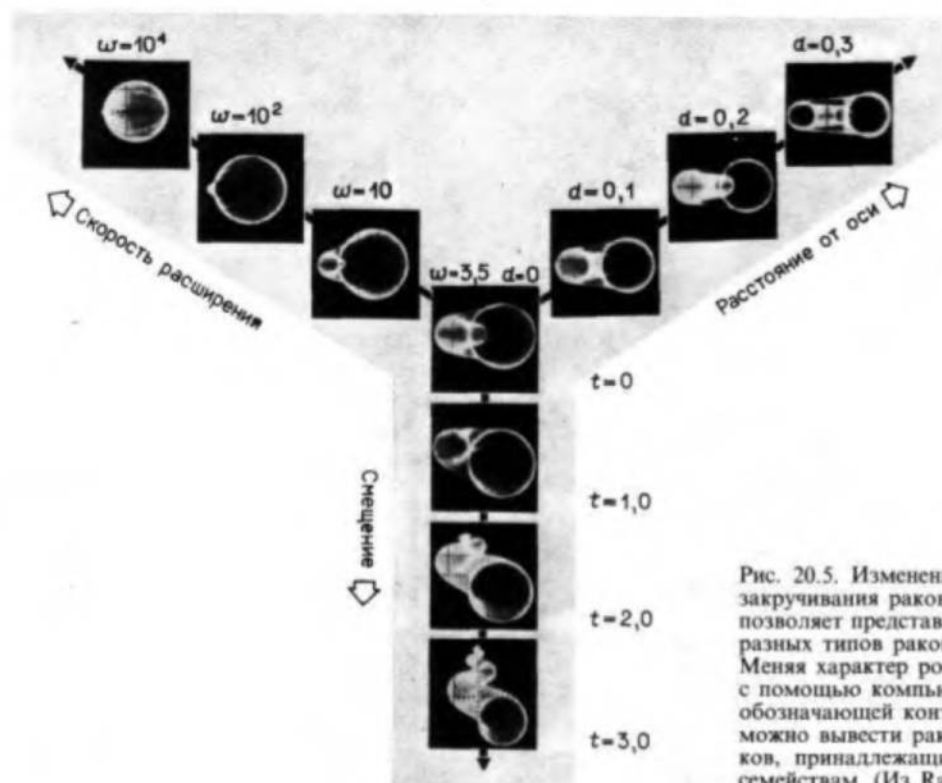


Рис. 20.5. Изменение параметров закручивания раковины улитки позволяет представить образование разных типов раковин моллюсков. Меняя характер роста полученной с помощью компьютера кривой, обозначающей контур раковины, можно вывести раковины моллюсков, принадлежащих к разным семействам. (Из Raup, 1966.)

существования к донному, роющему образу жизни). В других случаях эти изменения более постепенны и позволяют улитке по мере развития изменить свое строение. Примером может служить червеобразная улитка, изображенная на рис. 20.6. Дифференциальная скорость роста, по-видимому, имеет адаптивное значение, поскольку по мере роста организм может оказаться в иных условиях обитания (Randall, 1964).



Рис. 20.6. Изменение параметров роста в течение жизни организма. В раковинах этих червеобразных брюхоногих моллюсков смещение витка раковины относительно его оси изменяется по мере развития животного.

Вариабельность параметров роста дает возможность моллюскам приспосабливаться к широкому разнообразию условий. В самом деле, близкородственные группы могут иметь раковины, поразительно различающиеся по своей морфологии. Эта пластичность затрудняет попытки классифицировать моллюсков, но она же свидетельствует о том, какую важную роль играет характер роста для эволюционных изменений.

Аллометрический рост

Росту многих организмов однообразие не свойственно. Так, очевидно, что в определенные периоды жизни скорость роста увеличивается по сравнению с другими периодами. У человека скорость роста в течение первых десяти лет жизни значительно выше, чем за десять лет после окончания колледжа. Кроме того, не все части организма растут с одинаковой скоростью. Явление дифференциального роста частей организма называется **аллометрией**. Аллометрический рост у человека представлен на рис. 20.7. Руки и ноги растут у нас с большей скоростью, чем голова и туловище, вследствие чего пропорции тела взрослого очень отличаются от пропорций тела ребенка.

Джулиан Хаксли (Huxley, 1932) сравнивал ал-

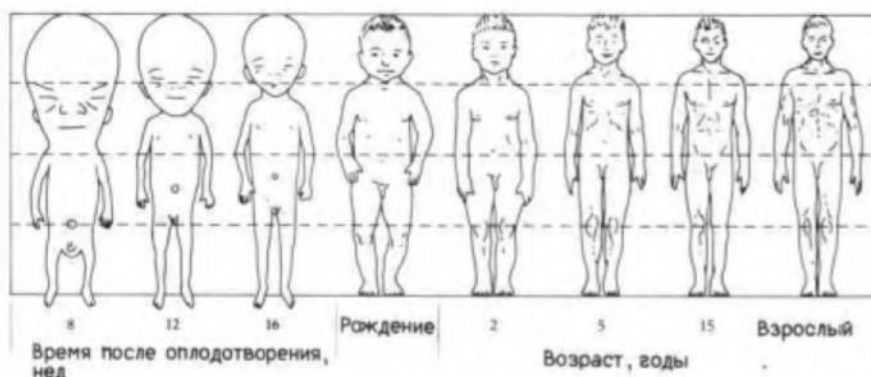


Рис. 20.7. Аллометрия у человека. У эмбриона формируется необыкновенно крупная по сравнению с телом голова. Когда эмбриональный период закончится, голова начинает расти значительно медленнее, чем туловище, руки и ноги. Аллометрия у человека впервые была отражена в западном искусстве эпохи Возрождения. До тех пор детей изображали в виде маленьких взрослых. (По Moore, 1983, а также Purves, Orians, 1985.)

лометрию с помещением в банк денег под различные проценты. Формула аллометрического роста (или для денежных сумм, помещенных в банк на разных условиях) может быть представлена так: $y = bx^{a/c}$, где a и c — скорости роста двух частей тела, а b служит значением для y при $x = 1$. Если $a/c > 1$, то часть тела, представленная a , растет быстрее, чем часть тела, представленная c . Пользуясь логарифмами (что проще представить графически), то же самое уравнение можно изобразить так: $\log y = \log b + (a/c) \log x$.

Один из самых ярких примеров аллометрического роста демонстрирует самец манящего краба *Uca pugnax*. У маленького краба-самца первая пара ног снабжена небольшими коготками-клешнями, каждая из которых составляет около 8% от общей массы краба. По мере роста краба одна клешня начинает увеличиваться с большей скоростью, чем остальное тело, и в конце концов достигает 38% его массы (рис. 20.8, табл. 20.2). Если эти данные отложить в логарифмическом масштабе (массу тела на оси x , массу клешни на оси y), то получается прямая линия, наклон которой будет выражать отношение $a:c$. У самца *Uca pugnax* (получившего свое имя — «воинственный» — из-за громадной клешни) это отношение равно 6:1. Оно означает, что масса клешни возрастает в шесть раз быстрее, чем масса остального тела. У самок этого вида масса клешни продолжает составлять 8% массы тела в течение всего периода роста. Аллометрический рост свойствен лишь самцам, у которых клешня служит для защиты и угрозы.

Еще один важный пример аллометрического роста дают нам общественные насекомые. В колониях муравьев (как и в колониях пчел и ос) сообщество состоит почти исключительно из самок, и его структура основана на морфологических различиях меж-

ду членами-самками. Сложные сообщества муравьев включают несколько морфологически различающихся типов стерильных рабочих самок и фертильную «матку», выполняющую репродуктивную функцию. Крупные рабочие муравьи («солдаты») отличаются большими размерами, широкой головой и большими нижними челюстями. Рабочие муравьи меньших размеров характеризуются хорошо развитыми ногами. Особей любого вида, относящихся к рабочим группам и различающихся по форме и размерам, можно расположить на одной аллометрической кривой (Huxley, 1932; Wilson, 1953). Это соотношение представлено на рис. 20.9.

Регулятором роста (а следовательно, и фактором детерминации социальной касты) служит юве-

Таблица 20.2. Относительная сухая масса большой клешни и тела у манящего краба (*Uca pugnax*)

Масса тела без клешни, мг	Масса клешни, мг	Отношение массы клешни к общей массе тела, %
58	5	8,6
80	9	11,2
200	38	19,0
300	78	26,0
420	135	32,1
536	196	36,6
618	243	39,3
743	319	42,9
872	418	47,9
1080	537	49,7
1212	617	50,9
1363	699	51,3
1449	773	53,7
1808	1009	55,8
2233	1380	61,7

Из Huxley, 1932.



Рис. 20.8. Экземпляры манящего краба *Uca pugnax*. Аллометрический рост претерпевает лишь одна из клешней самца. У самок (не показано) обе клешни характеризуются изометрическим ростом.

нильный гормон. Известно, что именно ювенильный гормон играет важную роль в определении самки, которая в колониях муравьев и пчел станет маткой. Показано также (Wheeler, Nijhout, 1981), что тот же самый гормон определяет, разовьется ли из личинки «солдат» или малая рабочая особь. Личинка рабочего муравья *Pheidole bicarinata* от вылупления до метаморфоза претерпевает три личиночные линьки. Последняя третья линька наступает у личинок, достигающих в длину 0,6 мм. У боль-

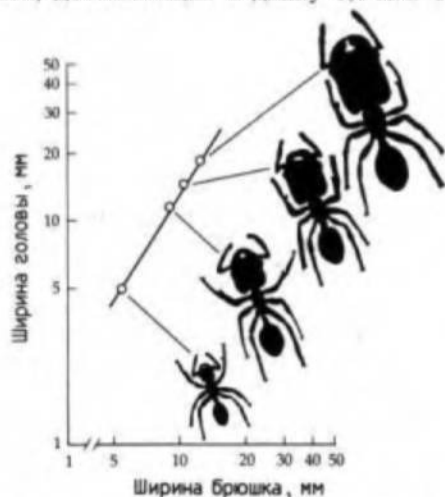


Рис. 20.9. Аллометрическое соотношение между размерами головы и туловища у муравья *Pheidole instabilis*. Обратите внимание, что величины по осям графика отложены в логарифмическом масштабе. (По Raff, Kaufman, 1983.)

шинства таких личинок линька, после которой наступает окукливание, происходит по достижении ими длины 1,3 мм. Их метаморфоз завершается образованием малых рабочих особей. Однако небольшая часть личинок третьего возраста находится на более питательной диете. Эти личинки в течение 15 сут после своей последней линьки не приступают к метаморфозу, увеличиваясь в размерах до 1,8 мм. Им предстоит стать солдатами. Воздействуя на личинок аналогами ювенильного гормона прежде, чем они достигнут в длину 1,3 мм, удалось искусственно увеличить продолжительность третьей возрастной стадии. После воздействия гормоном личинки продолжали расти, а затем превращались в солдат. Из этого был сделан вывод, что диета, богатая питательными веществами, повышает у личинок солдат уровень ювенильного гормона, и линька, ведущая к куколке, не происходит, пока ювенильный гормон не будет выведен из личиночной кровеносной системы. У личинок, получающих усиленное питание, для этого потребуется более 6 сут, в течение которых личинки будут продолжать расти. При метаморфозе таких личинок в результате аллометрического роста формируются мощные челюсти, характерные для рабочих особей-солдат.

Аллометрический рост наблюдается также у высших животных. У павианов скорость роста челюстей и других лицевых структур почти в 4,25 раза превышает скорость роста черепа (рис. 20.10). Более выступающее вперед лицо павиана-самца — это просто следствие того, что он крупнее самки. Сход-



Рис. 20.10. Аллометрический рост головы павиана. Черепа особей разного возраста свидетельствуют о необычайном увеличении лицевых структур по сравнению с мозговой коробкой. (По Huxley, 1932.)



ный пример аллометрии демонстрируют ископаемые остатки самого величественного из оленей, *Megaloceros giganteus*, так называемого ирландского оленя. Этот гигантский олень имел в высоту более 3 м (рис. 20.11); он обитал в Европе до похолодания климата, около 11 000 лет тому назад. Гоулд (Gould, 1974), проанализировав 74 ископаемых черепа и рогов (простиравшихся почти на 3,5 м) этого вида, выявил положительную аллометрию для рогов, которые росли в 2,5 раза быстрее, чем череп.

Рис. 20.11. Положительная аллометрия рогов по отношению к черепу у *Megaloceros giganteus*. Скелет «ирландского оленя» (рядом для сравнения стоит человек). Гоулд считает, что, судя по положению этих рогов, они выполняли скорее декоративную функцию, а не служили для защиты или нападения. (Из Gould, 1974.)

Дополнительные сведения и гипотезы

Эволюция и аллометрия

Аллометрия внутри вида служит источником изменений, которые могут быть отвергнуты или приняты эволюцией. Дифференциальный рост у муравьев позволил некоторым видам приобрести высокоспециализированные касты рабочих особей. Положительная аллометрия челюстей у *Cataglyphis bombyana* дала начало касте напоминающих солдат рабочих, чьи огромные челюсти могут переносить крупные песчинки при строительстве гнезда. Муравьи некоторых видов используют солдат с их огромными головами для закупоривания входа в муравейник при нападении на колонию (Wilson, 1953).

Кроме аллометрии, проявляющейся в процессе развития особей данного вида, существует также

аллометрия среди взрослых представителей близкородственных видов (Gould, 1966; Alberch et al., 1979). На рис. 20.12 представлены аллометрические соотношения массы мозга и массы тела у пяти родственных видов мадагаскарских насекомых. Можно убедиться в том, что межвидовая аллометрия выражена в значительно большей степени, чем аллометрия в пределах отдельных видов. Действительно, отношение $a:c$ у всех видов одинаково. Различия касаются члена b упомянутого уравнения. Если межвидовое отношение $a:c$ равно 1,0, то это означает, что виды, характеризующиеся большими размерами, являются увеличенными вариантами своих более мелких родичей (или предков). Иными словами, крупные потомки более мелких предковых

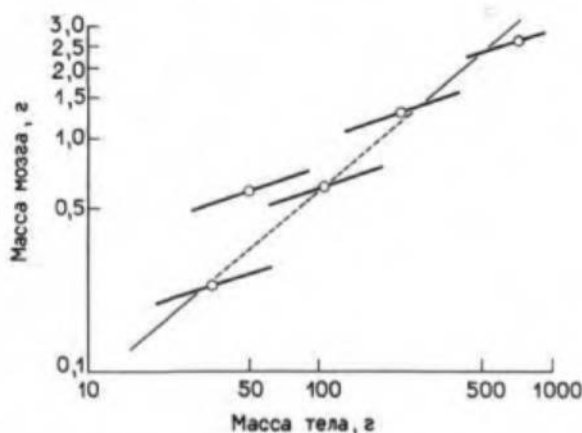


Рис. 20.12. Меж- и внутривидовая аллометрия массы тела и мозга у насекомоядных млекопитающих Мадагаскара. Онтогенетические аллометрии (в пределах развития единичного организма) показаны сплошными линиями. Филогенетическая аллометрия (между родственными видами) обозначена прерывистыми линиями. (По Gould, 1971.)

форм могли возникнуть путем перехода к аллометрическому росту более крупного зачатка (Gould, 1971).

Из приведенного выше обсуждения аллометрии у павианов можно заключить, что «нормальное» человеческое лицо представляет собой результат замедленного роста лица приматов при сохранении формы, свойственной плоду человекообразных обезьян. Через несколько лет после того как Джулиан Хаксли опубликовал свои «Проблемы относительного роста», его младший брат Олдос выпустил книгу под названием «After Many a Summer Dies the Swan». Эта книга заканчивается описанием встречи одного из ее персонажей — ученого, которому было поручено изобрести эликсир бессмертия — с неким английским дворянином, начавшим такие же опыты 200 лет назад. Старый джентльмен был все еще жив и шеголял своими наградами, однако наружность его несколько изменилась. Фактически он превратился в гориллу: «... «плод антропоида получил возможность перейти к зрелости». Это была лучшая из шуток, которую мне довелось слышать когда-либо».

Вид может эволюировать также путем изменения относительной скорости роста отдельных органов или частей тела. Д'Арси Томпсон утверждал, что не только различные области тела могут расти с разной скоростью, но что существуют еще градиенты роста, приводящие к изменению геометрии

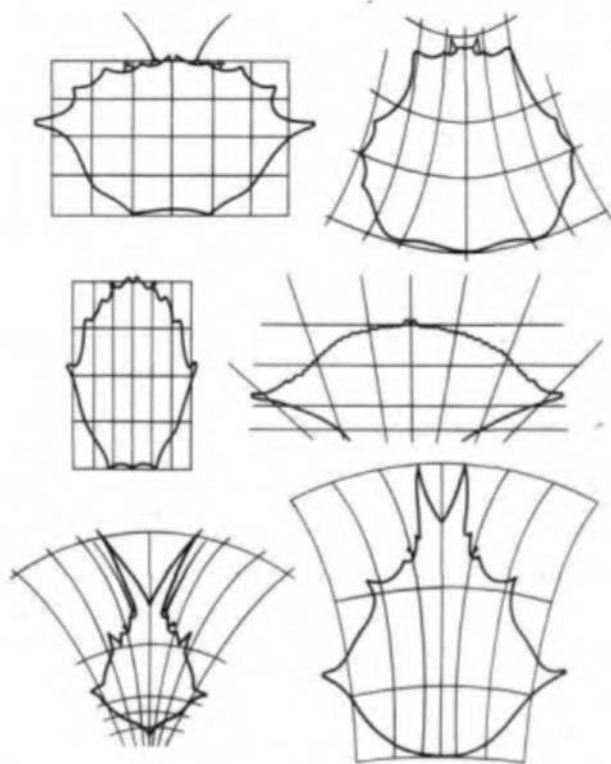


Рис. 20.13. Трансформация формы карапаксов краба путем изменения системы координат, на которой они изображены. Представлены карапаксы различных видов крабов; все эти формы могут быть получены путем изменения декартовой системы координат. (Из Thompson, 1942.)

форм. Он обосновал это графически, начертив поверх изображения органа сеть прямоугольных координат и математически ею манипулируя. В результате этих манипуляций трансформировалась форма биологической структуры — одни ее части удлинялись, другие укорачивались. (Это можно проиллюстрировать на примере географических карт: на полярной шкале координат глобуса Гренландия выглядит относительно узкой, тогда как на стандартных равноугольных проекционных картах Меркатора она представлена относительно широкой.) На рис. 20.13 показано, каким образом в результате простой трансформации системы прямоугольных координат могут быть получены формы карапакса крабов, относящихся к разным видам. Клеточные процессы, лежащие в основе этих изменений, пока не известны.

ФИЗИОЛОГИЯ РОСТА ОРГАНОВ

Гормоны роста и митоз

Увеличение размеров органа может быть достигнуто двумя способами. Первый способ заключается в увеличении размеров клеток при сохранении их постоянного числа. Этот способ роста называется **гипертрофией**. Второй способ заключается в увеличении числа клеток (каждая из которых может сохранять те же размеры). Этот способ называется **гиперплазией** (Goss, 1978). Гипертрофия часто наблюдается в тканях, утративших способность к митотическим делениям. К этой категории тканей относятся жировая ткань, в которой цитоплазма адипоцитов перегружена жировыми включениями, и скелетная мышечная ткань, многоядерные клетки которой подчинены строго упорядоченной организации актина и миозина. Таковыми представляются и личиночные клетки насекомых, которые увеличиваются путем гипертрофии, тогда как соседние имагинальные диски растут в результате гиперплазии. У человека предшественники адипоцитов делятся в течение первого года жизни (Brook, 1972; Adebonojo, 1975). Затем их число остается постоянным, хотя есть данные о некотором увеличении числа жировых клеток в молодости. Рост жировой ткани может быть индуцирован жирной пищей, которая вызывает увеличение размеров индивидуальных адипоцитов, не изменяя их числа (Stern, Greenwood, 1974), или путем продления времени, в течение которого предшественники жировых клеток могут делиться. По-видимому, это дополнительное время деления ответственно за наслед-

ственную тучность, наблюдаемую в некоторых инбридных линиях животных (Johnson et al., 1971). На рис. 20.14 показан ритм гипертрофии адипоцитов у желтобрюхого сурка *Marmota flaviventris*. У этих животных образуется огромный запас жира, позволяющий им переживать зиму. Весной после пробуждения адипоциты лишены жировых включений, из норы вылезает тощий сурок (Ward, Armitage, 1981). Гипертрофию скелетной мускулатуры (и кровеносных сосудов) человека иллюстрирует рис. 20.15. Подобный рост определенного набора мышц часто наблюдается у толкателей ядра и у плотников.

Рост большинства тканей у животных происходит путем митотических делений. Число функциональных единиц почки и легкого, соответственно нефронов и альвеол, закладывается в раннем детстве. Их рост происходит за счет добавления клеток к существующим структурам. Сходным образом рост ткани кожи идет путем добавления новых клеток, а не увеличения объема существующих. Некоторые ткани, такие, как печень, сохраняют популяцию клеток, способных не только делиться, но и формировать новые структуры, например дольки (Goss, 1966). На рис. 20.16 показано время, в течение которого к растущим структурам тела человека могут добавляться функциональные единицы.

Что же контролирует скорость клеточных делений? Некоторые клетки (такие, как нейроны, жировые клетки и клетки скелетной мускулатуры) во время роста едва ли делятся вообще. Другие (например, фибробласты, костные клетки, клетки почек) обладают ограниченным и точно регулируемым характером делений. Вместе с тем некоторые

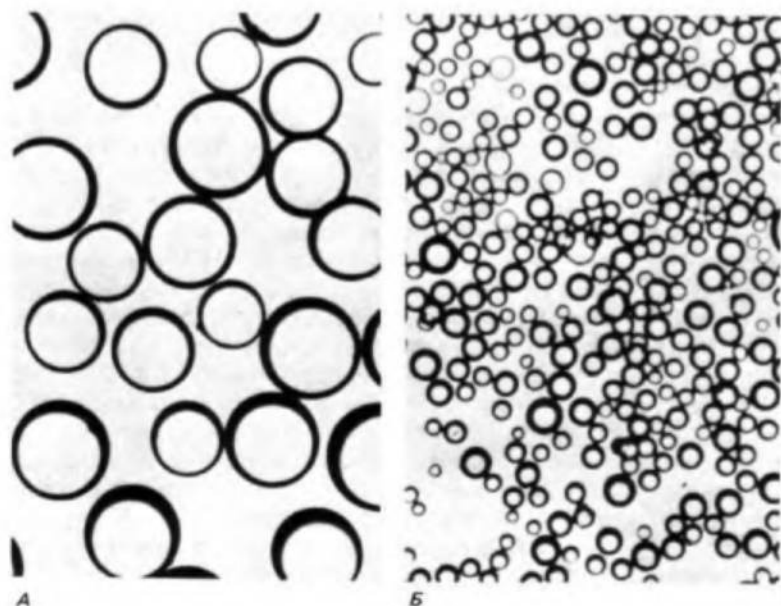


Рис. 20.14. Гипертрофия жировых клеток у сурка. Диспергированные адипоциты (жировые клетки) у желтобрюхого сурка перед (А) и после (Б) зимней спячки. (Фотография с любезного разрешения G. Florant.)



Рис. 20.15. Гипертрофия мышц человека на примере дельтовидной и двуглавой мышц у профессионального культуриста. Рост этих мышц продолжается в течение длительного времени после того, как мышечные клетки утратили способность к делению. Обратите внимание также на кровеносные сосуды, обслуживающие эти мышцы. (Фотография Jan Watson.)

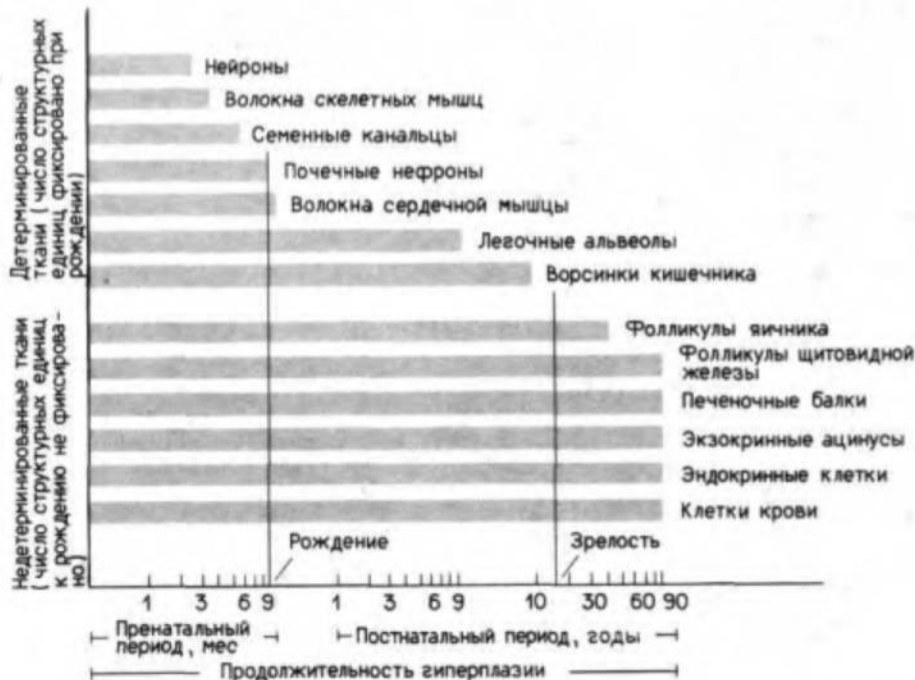


Рис. 20.16. Продолжительность митотической фазы роста для разных тканей человека. (По Goss, 1966.)

клетки (такие, как стволовые клетки крови и сперматогенные клетки) делятся постоянно в течение всей жизни организма. Полагают, что существуют два основных уровня контроля клеточных делений. Первый – это *внешний* контроль, когда рост органа зависит от фактора, источником которого служат другие ткани, и второй – *внутренний* контроль, при котором сама ткань или орган регулируют свой собственный рост.

Внешний контроль роста наблюдается в случаях, когда один орган влияет на рост другого. У большинства позвоночных рост всего тела регулируется синтезом **соматотропина**, или **гормона роста (ГР)**. Наиболее очевидный эффект действия этого гормона наблюдается в процессе роста длинных костей конечности (гл. 6); отсутствие этого гормона вызывает у человека пропорциональную карликовость. Для координации роста всего тела гормон роста должен влиять на увеличение размеров и других органов; чувствительностью к этому гормону должны обладать печень, почки, костный мозг, поджелудочная железа, молочные железы, гонады, тимус, жировая ткань и гипоталамус. Ткани плода, по-видимому, более чувствительны к соматотропину, чем взрослые ткани; соматотропин начинает синтезироваться плодом уже через 70 дней после оплодотворения (Martin, 1985).

Способность гормона роста координировать рост всего тела впервые была продемонстрирована в очень эффектным эксперименте с использованием рекомбинантных плазмид. В 1982 г. Домер и др. (Doehmer et al., 1982) создали «библиотеку» хромосомной ДНК крысы путем разрезания ее генома низкими концентрациями ферментов рестрикции,

таких, как *EcoRI* и клонирования этих фрагментов ДНК в плазмидном векторе pBR322. Использование низких концентраций фермента позволяет получить много отрезков ДНК, включающих нерасщепленный сайт *EcoRI*. Этот метод повышает вероятность выделения относительно длинных фрагментов, содержащих весь ген. Радиоактивный зонд кДНК был получен из мРНК гормона роста крысы с помощью обратной транскриптазы (гл. 10). Такой зонд использовался для идентификации клонов рекомбинантной ДНК, которые содержат ген гормона роста крысы. Один из клонов содержал отрезок ДНК длиной 7600 пар оснований, предположительно включавший весь ген гормона роста крысы. Этот ген, трансфицированный в ДНК культивируемых фибробластов мыши, оказался способным кодировать крысиный гормон роста.

Затем из рекомбинантной плазмиды был выделен ген длиной 7600 пар оснований и у крысиного гена гормона роста была удалена лидирующая последовательность (Palmiter, 1982). В ее состав входит *cis*-регуляторная последовательность, обуславливающая нормальную транскрипцию. На ее место была помещена *cis*-регуляторная последовательность другого гена – мышинного гена металлотионеина I (*MT-I*), кодирующего небольшой белок, регулирующий уровень цинка в сыворотке. Полученный гибридный ген представлен на рис. 20.17. Ген *MT-I* можно индуцировать ионами тяжелых металлов, таких, как цинк или кадмий, а последовательности, отвечающие за эту индукцию, располагаются в 5'-фланкирующей области гена. Слияние этой металлотионеиновой промоторной области с геном гормона роста крысы (*rGH*) помещает ген кры-

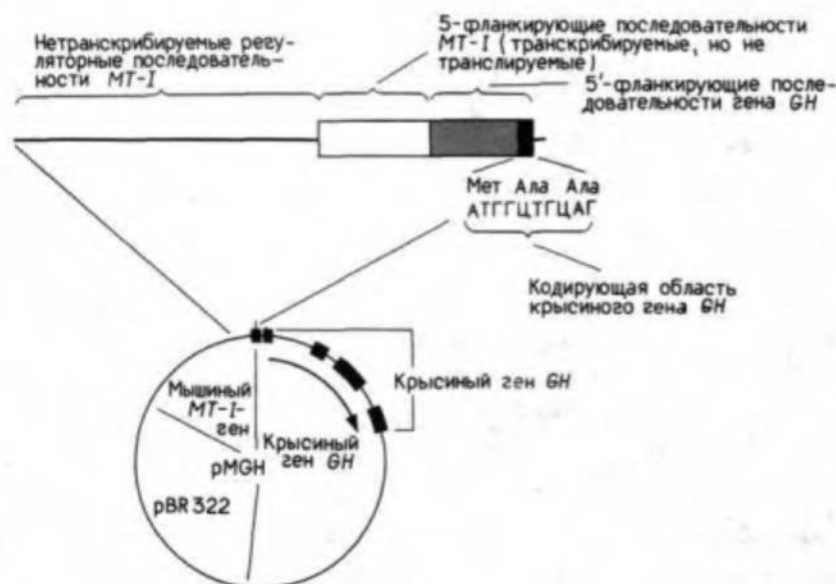


Рис. 20.17. Рекомбинантная плазмида, содержащая структурный ген гормона роста крысы, металлотионеиновую регуляторную область мыши и бактериальную плазмиду pBR322. Плазмида pMGH была введена в ооцит мыши. Темные боксы в этой плазмиде соответствуют экзонам гена *GH* (гена гормона роста). Направление транскрипции указано стрелкой. Над замкнутой плазмидой представлено в увеличенном виде место соединения металлотионеиновой регуляторной области с геном *GH*. (По Palmiter et al., 1982.)

синого гормона роста под контроль металлотионеинового промотора. В результате активации промотора присутствием цинка или кадмия должен синтезироваться гормон роста крысы.

Тройная рекомбинантная плазмида (бактериальная плазмида pBR322–мышинный металлотионеиновый промотор–ген крысиного гормона роста) культивировалась в бактериях, после чего был изолирован ее фрагмент, представленный *MT-I-rGH*. Около 600 копий этого фрагмента инъецировали в пронуклеусы недавно оплодотворенных яиц мыши. Из 170 таких зигот, которые затем были имплантированы в матки псевдобеременных мышей, 21 продолжала развитие до конца беременности. В хромосомах полученных мышей с помощью метода гибридизации ДНК выявили включения многочисленных копий гена гормона роста. Полученных **трансгенных** мышей (т.е. мышей, содержащих ген другого вида, в данном случае ген крысиного гормона роста) кормили пищей с повышенным содержанием цинка. Цинк индуцировал в печени мышей синтез больших количеств крысиного гормона роста. (Печень служит обычным местом синтеза металлотионеина. Гормон роста обычно секретируется гипофизом.) Количество секретируемого гормона роста коррелировало с размерами этих мышей. Трансгенные мыши оказались огромными по сравнению со своими нормальными собратьями из того же самого помета – почти на 80% крупнее (рис. 20.18). Все «супермыши» характеризовались нормальными пропорциями тела, поскольку каждый орган увеличивался соответствующим образом.



Рис. 20.18. Мышь, развившаяся из яйца, в которое была инъецирована pMGH (слева), и нормальная мышь из того же помета (справа). (Из Palmiter et al., 1982; фотография с любезного разрешения R. L. Brinster.)

Единственно, чем отличались крупные мыши от своих нормальных молочных братьев и сестер, так это наличием генов крысиного гормона роста; отсюда можно заключить, что именно гормон роста несет ответственность за координированную регуляцию роста млекопитающих¹.

Гормон роста, по-видимому, на одни клетки действует непосредственно, а на другие – косвенно. Было показано (Isaksson et al., 1982), что на рост костей он оказывает прямое влияние. Например, если удалить гипофизы у молодых крыс и затем ввести гормон роста прямо в формирующиеся конечности на одной стороне тела (конечности другой стороны служат контролем), то конечности, на которые действовали гормоном, будут расти, а контрольные – нет. Гормон роста активно связывается с хрящевыми клетками и стимулирует синтез ДНК в культуре хондроцитов (Eden et al., 1983; Madsen et al., 1983). Полагают, что не прямое действие гормона роста осуществляется посредством веществ, называемых **соматомединами**. Эти пептиды секретируются печенью в ответ на гормон роста; их уровень низок у людей, страдающих недостаточностью гормона роста, но после введения этого гормона он повышается. Возрастание уровня соматомединов наблюдается также во время «вспышки роста» у подростков и у больных с опухолями, секретирующими гормон роста (Vassilopoulou-Sellin, Phillips, 1982; Luna et al., 1983). В группу соматомединов входят **инсулиноподобный фактор роста I** (ИФР-1, соматомедин С) и **инсулиноподобный фактор роста II** (ИФР-2, соматомедин А).

Эти факторы работают на определенных фазах клеточного цикла. Как уже упоминалось ранее, цикл соматических клеток подразделяется на фазу М (митоз), фазу G_1 (от англ. gap – промежуток) между митозом и следующей фазой S (синтез ДНК) и фазу G_2 между S и М. Клетки, которые прекращают делиться, находятся в фазе покоя – G_0 . Клетку в фазе G_0 от той же самой клетки в фазе G_1 отличает набор синтезируемых ею белков (Baserga, 1985). Клетки, выходящие из фазы G_0 , стимулированы фактором роста к переходу в состояние «компетентности» к вступлению в клеточный цикл. Иначе говоря, они должны быть эквивалентны клеткам, которые только что закончили митоз. Примерно на полпути периода G_1 они достигают пункта,

¹ Описанный эксперимент наводит нас на размышления определенного рода. Во-первых, перед нами открывается потенциальная возможность устранять генетические дефекты путем введения нормального гена в пронуклеус яйца, оплодотворенного вне тела матери. Такие яйца, продолжающие развитие, могут быть возвращены в матку женщины. Во-вторых, нельзя не считать с чувством ответственности, обычно возрастающим пропорционально нашим возможностям, – хотим мы этого или нет.

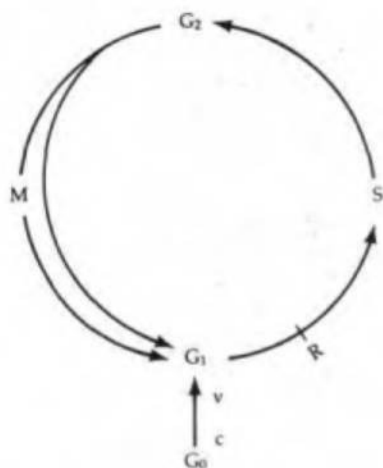


Рис. 20.19. Схема клеточного цикла нормальных клеток млекопитающих. Указаны точки, в которых клетки, находящиеся в фазе G_0 , могут войти в клеточный цикл (C), и где клетки, находящиеся в фазе G_1 , коммитируются к синтезу ДНК (R). c—точка компетенции; M—фаза митоза; S—фаза синтеза; v—точка входа в фазу G_1 .

где должно быть принято решение о том, приступить или не приступить к делению. До этой точки митоз может быть блокирован ингибиторами транскрипции или трансляции. После прохождения клеткой этой точки она вступит в фазы S, G_2 и M независимо от стимуляции извне (рис. 20.19) (Yang, Pardee, 1986).

ИФР-I разрешает переход клеток из фазы G_1 к фазе S (Leof et al., 1982). Нильсоном и др. (Nilsson et al., 1986) недавно было показано, что этот белок играет существенную роль при росте конечности,

регулируемом гормоном роста. Если подействовать гормоном роста на зачаток большой берцовой кости молодых гипофизэктомированных крыс (как в вышеупомянутом эксперименте), то он стимулирует образование ИФР-I хондроцитами пролиферативной зоны (рис. 20.20). Сочетание гормона роста с ИФР-I может обеспечить исключительно сильный митотический сигнал. Гормон роста может стимулировать деление стволовых клеток, ведущее к образованию клеток, способных отвечать на ИФР-I. Эти новые клетки под действием соматомедина будут вновь реплицироваться (Zezulac, Green, 1986). Пигмеи, живущие в Заире, имеют нормальный уровень гормона роста и ИФР-I до полового созревания; после чего уровень ИФР-I у них снижается почти на треть по сравнению с таковым у нормальных подростков. Представляется вероятным, что именно ИФР-I ответствен за вспышку роста при нормальном половом созревании (Merimee et al., 1987).

Как следует из их названий-синонимов, соматомедины имеют почти ту же аминокислотную последовательность, что и инсулин, который также служит стимулирующим рост пептидом (например, в случае развития молочных желез мыши; гл. 19). Сам гормон роста тоже гомологичен инсулину, как и лактоген плаценты—гормон, выделяемый трофобластом и, вероятно, влияющий на рост плода путем изменения метаболизма глюкозы у матери,—и фактор роста нервов, функции которого были подробно описаны в гл. 5. Таким образом, инсулин, гормон роста, соматомедины, лактоген плаценты, фактор роста нервов объединяются в семейство родственных факторов роста.

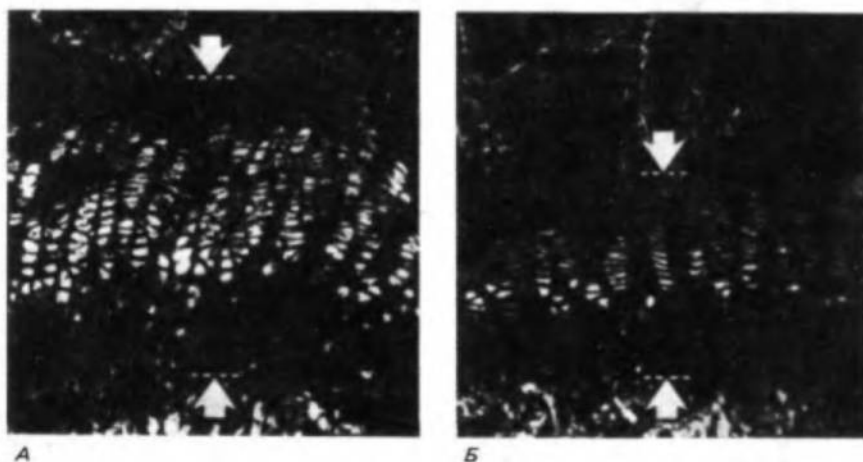


Рис. 20.20. Действие гормона роста (ГР) на рост хряща и синтез инсулиноподобного фактора роста I (ИФР-I). Гормон роста был инъецирован в ростовую пластинку большой берцовой кости с одной стороны гипофизэктомированной крысы (А); другая сторона (Б) служила контролем. Микроскопические срезы окрашены антителом, узнающим ИФР-I. Стрелки обозначают ширину эпифизной ростовой пластинки. Микрофотография свидетельствует о том, что ГР индуцирует рост и синтез ИФР-I. (Из Nilsson et al., 1986; фотографии с любезного разрешения О. Isaksson.)

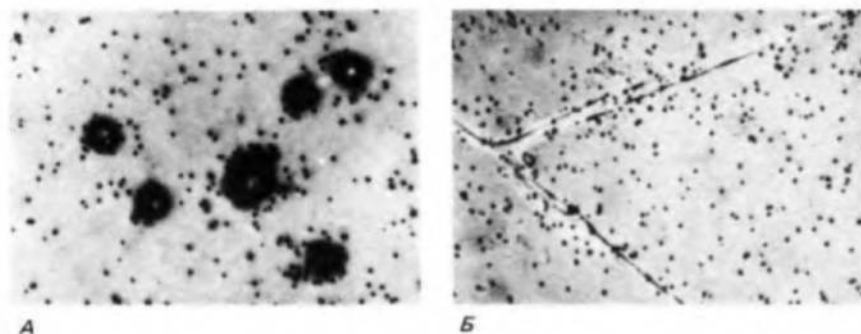


Рис. 20.21. Связывание фактора роста фибробластов (ФРФ) в развивающейся мышце. А. Связывание радиоактивного ФРФ делящимися фибробластами указывает на присутствие мембранных рецепторов ФРФ. Б. Эти рецепторы утрачиваются, когда клетки прекращают деление и формируют мышечные трубочки. (Из Olwin, Hauschka, в печати; фотографии с любезного разрешения S. Hauschka.)

Идентифицированы и другие внешние факторы роста. **Фактор роста, полученный из тромбоцитов (ФРТ)**, стимулирует деление гладкомышечных клеток, фибробластов и глиальных клеток (Ross, Vogel, 1978). Он служит триггером, обуславливающим выход неделящихся клеток из G_0 и вступление их в фазу G_1 клеточного цикла (Stiles et al., 1979). По-видимому, этот фактор ответствен за заживление разрывов кровеносных сосудов, поскольку содержание его увеличивается в клетках, находящихся у края раны. ФРТ связывается с рецепторами на поверхности этих клеток, индуцируя тем самым ядро к синтезу белка (Olashaw, Pledger, 1982). Другой важный гормон роста — это **эндермальный фактор роста (ЭФР)**, который стимулирует клеточные деления во многих тканях, в том числе в эпителии молочных желез и эпидермисе. Он необходим для формирования твердого неба, эпителиальной выстилки глотки и ротовой полости, а также для образования рога. ЭФР служит не только фактором роста, но и гормоном, стимулирующим дифференцировку. Инъекции инноворожденным мышам, он ускоряет прорезывание глаз и появление зубов (Savage, Cohen, 1972). Если ФРТ дает возможность неделящимся клеткам вступить в клеточный цикл (G_0 - и G_1 -компетентность), то ЭФР способен перевести клетки из фазы G_1 в фазу S (Pledger et al., 1984).

Появление способности реагировать на тот или иной фактор роста может играть исключительно важную роль в развитии. В гл. 6 мы говорили о том, как различные типы предшественников клеток крови приобретают способность дифференциально реагировать на гематопозитические факторы роста, а в гл. 16 обсуждалось, каким образом В-клетки приобретают рецепторы для факторов роста, продуцируемых Т-клетками. Скелетные миоциты делятся в присутствии либо ЭФР, либо **фактора роста фибробластов**. Слияясь при формировании мышеч-

ных трубочек, они утрачивают рецепторы к стимулирующим митоз белкам (рис. 20.21) (Lim, Hauschka, 1984; Olwin, Hauschka, 1988). Существуют многочисленные другие гормоны роста, причем некоторые из них могут стимулировать деления самых разных клеток, тогда как активность других требует высокоспецифических мишеней.

В основе действия факторов роста, подобных инсулину, включающих в свое семейство ФРТ, ЭФР и по крайней мере один гематопозитический фактор роста — колониестимулирующий фактор I (КСФ-I), — лежит, по-видимому, один и тот же общий механизм. В каждом случае рецептор для этих гормонов представлен белком, пронизывающим клеточную мембрану, который может быть разделен на три части: 1) наружный домен, узнающий и связывающий специфический фактор роста; 2) домен гидрофобных остатков, проходящий через мембрану; и 3) домен в цитоплазме, который может быть активирован с образованием **АТФ-тирозинфосфокиназы**. Эта ферментативная активность (чаще называемая просто тирозинкиназной активностью) не реализуется до тех пор, пока рецептор не свяжется со своим фактором роста. Если это произойдет, то конформационные изменения белка дадут возможность внутреннему домену осуществить каталитический перенос терминального фосфата АТФ к тирозиновым остаткам соседних белков (Cohen et al., 1980; Ullrich et al., 1985; Ebina et al., 1985). Это фосфорилирование тирозиновых остатков имеет важнейшее значение для последующих событий. Почти все реакции фосфорилирования белков (более 99,9%) осуществляются на сериновых и треониновых остатках. Фосфорилирование тирозиновых остатков, по-видимому, служит главным сигналом к началу синтеза ДНК в клетке и ее делению (рис. 20.22).

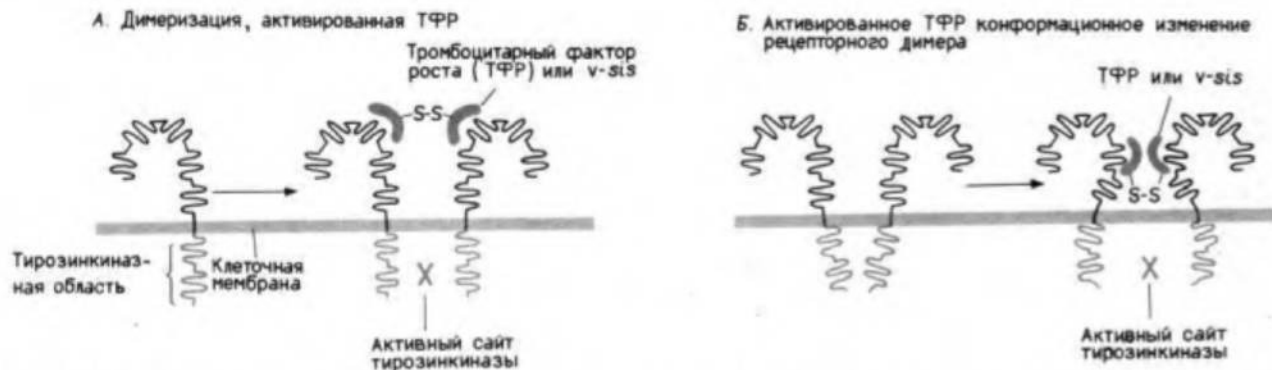


Рис. 20.22. Взаимодействие фактора роста тромбоцитов, или тромбоцитарного фактора роста (ФРТ) с его рецептором. Рецептор ФРТ пронизывает клеточную мембрану. Его внешний домен содержит пять иммуноглобулиноподобных доменов, способных связывать ФРТ. В цитоплазме находятся две области, вместе составляющие тирозинкиназу. Ограничения, накладываемые на строение белков, позволяют предположить, что активная тирозинкиназа в сущности представляет собой димер двух рецепторов. На схеме *А* активность белка ФРТ приводит к образованию таких димеров. На схеме *Б* ФРТ взаимодействует с предсуществующими димерами, в результате чего конформационное изменение создает активную тирозинкиназу. (По Williams, 1989.)

Факторы, ингибирующие рост

Кроме факторов, стимулирующих клеточный рост, существуют белки, которые его подавляют. Недавно были идентифицированы два таких белка: β -интерферон (β -ИНФ) и трансформирующий фактор роста- β (ТФР- β). Действие ТФР- β на клетки зависит от типа клетки-мишени и присутствия в среде других факторов роста. И в самом деле, в его названии отражается двойственный характер его действия. В одной лаборатории удалось выделить этот фактор, используя его способность трансформировать нормальные клетки в опухолевые (Roberts et al., 1981, 1982). Нормальным клеткам для роста необходим твердый субстрат. Что касается опухолевых клеток, то они способны расти и на такой полужидкой среде, как агароза. После воздействия ТФР- β рост некоторых нормальных клеток приобретает черты злокачественного роста. В другой лаборатории (Holley et al., 1980) те же молекулы были выделены на основе их способности ингибировать деление культивируемых клеток почки. Было обнаружено, что даже в концентрации 10 нг/мл этот белок подавляет клеточные деления на 80%. В настоящее время известно, что основной эффект ТФР- β состоит в ингибировании клеточного роста (Proper et al., 1982; Lawrence et al., 1984; Roberts et al., 1985) и что этот эффект может быть изменен добавлением других факторов. Некоторые опухоли (в том числе карцинома легких, карцинома молочной железы и линии клеток меланомы) ингибируются ТФР- β , и это ингибирование может быть усилено добавлением ЭФР. Однако в случае других опухолевых линий ЭФР может снизить ингибиторную активность ТФР- β (Roberts et al., 1985). ТФР- β ингибирует рост многих типов эпителиальных клеток,

лимфоцитов и эпидермальных клеток. Нормальные клетки сетчатки весьма чувствительны к ТФР- β , но клетки ретинобластомы утрачивают рецепторы этого белка и становятся устойчивыми к нему (Kimchi et al., 1988). Вместе с тем ТФР- β служит фактором роста фибробластов и эмбриональных эндотелиальных клеток капилляров (Hsu, Wang, 1986; Heine et al., 1987). У зародышей мыши в возрасте 11–18 сут ТФР- β обнаруживается преимущественно в мезенхиме, где происходит интенсивный ангиогенез.

β -Интерферон также ингибирует клеточную пролиферацию и блокирует переход клеток из фазы G_0 в фазу G_1 (Einat et al., 1985). Хантер (Hunter, 1986) и Резнишки с коллегами (Resnitzky et al., 1986) сообщили о синтезе β -ИНФ под действием некоторых факторов роста (например, ЭФР, КСФ-1, ФРТ). Эти данные свидетельствуют об обратной связи, способной регулировать неконтролируемую клеточную пролиферацию (рис. 20.23). Появились данные о том, что клетка, лишенная способности отвечать на ТФР- β , становится предрасположенной к злокачественному росту. Мозес с коллегами (по Marx, 1986) выделил линию опухолевых клеток, не имеющих рецептора к ТФР- β ; выделены также и другие линии опухолевых клеток, дефектных в отношении синтеза этого внутреннего ингибитора.

β -Интерферон проявляет свое ингибирующее пролиферацию действие, задерживая клетки перед вступлением в фазу S (Sokawa et al., 1977). В этот же период клеточного цикла проявляется действие ФРТ; сравнительно недавние данные (Lin et al., 1986) свидетельствуют о том, что β -интерферон блокирует активность ФРТ. Если внести ФРТ в популяцию мышинных фибробластов, задержанных в фазе G_0 в результате контактного ингибирования, то



Рис. 20.23. Контроль роста по принципу обратной связи в процессе дифференцировки клеток крови. А. Модель аутокринной регуляции роста. Фактор роста (в данном случае – это колониестимулирующий фактор 1 – КСФ-1) запускает клеточные деления и одновременно инициирует синтез и секрецию β -интерферона (β -ИНФ). Рецептор β -ИНФ на клеточной поверхности (той же клетки) связывает β -ИНФ и вызывает (пока еще не известным способом) деградацию РНК *c-myc*. Б. Экспрессия генов *c-myc* в процессе терминальной дифференцировки миелоидных клеток мыши, выявленная с помощью Нозерн-гибридизации клеточной РНК. РНК *c-myc* обнаруживается при пролиферации клеток (день 0). Когда деления прекращаются и клетки полностью дифференцируются (день 3), транскрипты *c-myc* исчезают. Однако если собственный β -ИНФ клетки инактивировать добавлением в среду антител анти-ИНФ, то деления возобновятся и обнаружится РНК *c-myc*. (Из Resnitzky et al., 1986.)

фактор роста заставит клетки перейти в фазу S. Но если одновременно добавить β -ИНФ, то клетки не будут реагировать на ФРТ. Кроме того, под действием β -ИНФ ингибируется синтез специфических белков, связанный со стимуляцией ФРТ. Таким образом, можно полагать, что β -ИНФ нейтрализует действие ФРТ, препятствуя клеткам вступать в фазу S клеточного цикла.

Деление клеток, по-видимому, контролируется взаимодействием стимулирующих рост гормонов и гормонов, подавляющих рост. Кроме того, ансамбль этих факторов регулирует клеточный рост таким образом, что митоз может не только осуществиться, но и быть остановлен, прежде чем клетки перейдут границы дифференцировки, определенные для них генетически.

Онкогены и клеточный рост

Вирусные онкогены

В течение последних пятнадцати лет исследования в области физиологии клеточного роста объединились с исследованиями, касающимися, казалось бы, совершенно иного направления – вирусологии. Механизм, лежащий в основе превращения нормальных клеток в злокачественные и называемый **онкогенезом**, столетиями был объектом на-

учных спекуляций и догадок. В конце прошлого века Теодор Бовери предположил, что причиной возникновения злокачественных опухолей служат дефекты в строении хроматина, но он не располагал методами, позволявшими обосновать эту идею. Примерно в то же время Пейтон Раус, молодой исследователь из Рокфеллеровского института, заявил, что вирусы могут вызывать образование злокачественных опухолей. Однако до последнего времени ни одно из подобных утверждений не могло быть проверено должным образом. Только в восьмидесятых годах нашего века с разработкой методов клонирования генов и получения моноклональных антител оказалось возможным анализировать механизмы онкогенеза как на уровне ядра, так и на уровне клеточной поверхности. Результаты этих исследований в значительной мере стимулировали объединение вирусной и клеточной теорий онкогенеза. По современным представлениям, злокачественная опухоль возникает в результате дефектов клеточного роста, а вирусные гены, вызывающие злокачественную трансформацию, на самом деле представляют собой потомство генов, когда-то попавших в клетку предшественного поколения.

Раус (Rous, 1910) выделил вирус, способный вызывать образование опухолей соединительной ткани (**сарком**) у цыплят. В 1958 г. Темину и Рубину

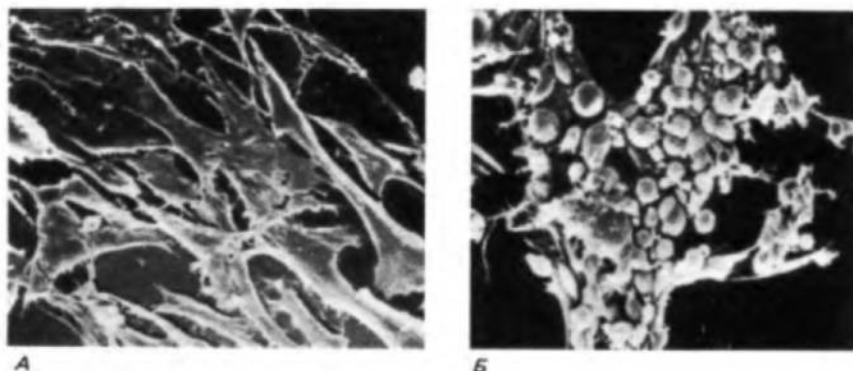


Рис. 20.24. Тест на злокачественность. А. Нормальные клетки при контакте друг с другом перестают мигрировать, и в них прекращается синтез ДНК. В результате на поверхности чашки Петри образуется один слой клеток. Б. Злокачественным клеткам не свойственно контактное ингибирование, поэтому они напозлают друг на друга. (Фотография с любезного разрешения G. S. Martin.)

(Temin, Rubin, 1958) удалось показать, что вирус саркомы Рауса может инфицировать растущие в культуре клетки цыпленка и трансформировать их. Для нормальных клеток характерно контактное ингибирование движения и клеточного деления. После соприкосновения они начинают двигаться в противоположные стороны. Клетка, окруженная со всех сторон своими соседями, не будет ни двигаться, ни делиться. В результате нормальные клетки в культуре всегда располагаются в один слой. Злокачественные же клетки утрачивают эту способность к ингибированию. Они могут продолжать рост даже в условиях окружения другими клетками со всех сторон. Таким образом, клетки, превратившиеся в злокачественные в культуре, можно отличить по формированию ими характерных холмиков делящихся клеток (**фокусы трансформированных клеток**), возвышающихся над плоским слоем нормальных клеток (рис. 20.24). Поскольку некоторые вирусы способны трансформировать нормальные клетки, была предложена гипотеза о наличии у вируса гена, ответственного за эту трансформацию. Эти гипотетические гены были названы **онкогенами** (от греч. *onkos* – нарост, опухоль), но только в 1979 г. Коупленд и др. (Copeland et al., 1979) смогли трансформировать фибробласты цыпленка посредством фрагмента ДНК вируса саркомы Рауса, содержащего единственный ген. Этот ген, названный *src*, не только обуславливает возникновение трансформированного фенотипа при включении в культивируемые клетки, но и будучи введен здоровым цыплятам, приводит к образованию опухолей. Было обнаружено, что ген *src* кодирует белок с молекулярной массой 60 000 дальтон (Brugge, Erikson, 1977; Beemon, Hunter, 1978).

По мере того как выделяли все больше опухоле-родных вирусов и их онкогенов, складывалась стран-

ная картина: онкогены не связаны с другими генами вируса и совершенно безразличны для его функционирования. Они используют вирус просто как транспортное средство (см. Duesberg, 1983). Темин (Temin, 1971) предположил, что вирусные онкогены – это нормальные клеточные гены, которые мутировали и затем были упакованы в вирусные частицы. Наиболее убедительные данные, свидетельствующие о конверсии нормальных клеточных генов в вирусные онкогены, были получены в работе Ханафузы и др. (Hanafusa et al., 1977), которые показали, что вирус, инфицировавший клетку, может захватывать онкоген. Они использовали мутантный вирус саркомы Рауса, не содержащий гена *src* и, следовательно, не способный трансформировать нормальные клетки в опухолевые. Этот дефект вируса не препятствовал его инфекции клетки и репликации в ней. Через несколько раундов инфекции некоторые вирусные частицы вновь приобрели способность после заражения выплывать вызывать у них образование опухолей. Проанализировав эти новые онкогенные вирусы, Ханафуза и его коллеги обнаружили, что они включают полный новый ген *src*. Таким образом, вирус оказался способным получить ген *src* от нормальной клетки.

Создание радиоактивных кДНК к вирусным онкогенам дало возможность продемонстрировать существование подобных генов в клеточном геноме. Геномную ДНК разрезали ферментами рестрикции, разделяли путем электрофореза и переносами на нитроцеллюлозный фильтр. После разделения на отдельные цепи действием щелочи ее инкубировали с радиоактивной ДНК из опухолевого вируса (рис. 20.25). Если последовательность клеточной ДНК гомологична таковой вирусного онкогена, то она должна связаться с радиоактивной кДНК, после чего ее можно выявить посредством радиоавто-



Рис. 20.25. Присутствие клеточного гомолога онкогена *v-abl* мышинного опухолевого вируса Абельсона. ДНК двух групп культивируемых клеток человека разрушали ферментом рестрикции *Hind* III и разделяли электрофоретически. После переноса ДНК на нитроцеллюлозный фильтр этот последний был инкубирован с радиоактивной ДНК, полученной из онкогена *v-abl*. Присутствие человеческого протоонкогена *c-abl* выявляется с помощью радиоавтографии. (Из Kozbor et al., 1986; фотография с любезного разрешения С. Croce.)

графии. Действительно такие последовательности были идентифицированы; некоторые из них перечислены в табл. 20.3. Эти клеточные гены называются **протоонкогенами**, или **клеточными онкогенами**.

Онкогены и клеточный рост

Допустив существование протоонкогенов в нормальных клетках, мы сталкиваемся с тремя связанными между собой вопросами: Каков нормальный продукт активности этих генов? Как они функционируют во время нормальной жизни клетки? Каким образом эти онкогены дают начало опухолевым клеткам? Данные, полученные около 10 лет назад, свидетельствуют о том, что протоонкогены — это гены, контролирующие синтез ДНК и клеточные деления (Heldin, Westermarck, 1984).

Варианты фактора роста

Развитие злокачественной опухоли может быть вызвано нарушением регуляции генов, функционирование которых обеспечивает процесс клеточного деления. Гипотетический путь, ведущий к делению клетки, представлен на рис. 20.26. Пептидный фактор роста из окружения клетки связывается рецептором фактора роста ее плазматической мембраны. В результате рецептор фактора роста претерпевает конформационные изменения, и его цитоплазматическая область сама приобретает тирозинкиназную активность или способность индуцировать тирозинкиназную активность у других молекул мембраны. Тирозинкиназная активность стимулирует активность какого-то компонента фосфатидилинозитольного пути. Следствием этих процессов является индукция некоторых ядерных белков, ведущая к изменению транскрипционной активности клетки и началу синтеза ДНК.

Нарушения регуляции, ведущие к образованию злокачественной опухоли, могут произойти на любом этапе этого пути. Не исключено, что в некоторых случаях вирусный онкоген был геном, кодирующим фактор роста. Примером может быть онкоген *v-sis* вируса обезьяньей саркомы. [Буква «v» в названии онкогена означает «вирусный», тогда как «с» (от англ. cell — клетка) говорит о том, что речь идет о его клеточном двойнике.] Одной из наиболее важных вех в истории исследования злокачественных опухолей служит открытие кодирования онкогеном *v-sis* одной из субъединиц фактора роста, выделенного из тромбоцитов (Doolittle et al., 1983; Waterfield et al., 1983). Вирус обезьяньей саркомы вызывает опухоли соединительной ткани у обезьян, и эти опухоли обнаружены только в клетках тех типов (фибробластах, клетках глии и миобластах), которые имеют рецепторы к ФРТ. При инфицировании этих клеток вирусом происходит транскрипция гена *v-sis*, а затем трансляция с образованием субъединиц ФРТ. Эта субъединица распознается собственными рецепторами клетки к ФРТ и служит сигналом к делению (Kelly et al., 1985). Описанный процесс называется **аутокринной стимуляцией**, поскольку клетки производят свой собственный гормон роста и на него же отвечают (рис. 20.27). Исследования Бетшольца и др. (Betscholtz et al., 1984) дают основания полагать, что взаимодействия между фактором роста *v-sis* и его рецептором даже опережают их появление на поверхности клетки. Скорее всего это взаимодействие и последующая стимуляция митоза происходят в то время, когда и фактор, и его рецептор подвергаются процессингу в эндоплазматическом ретикулеуме. Аутокринная стимуляция не является обычной для развивающегося организма. Однако известен случай, когда аутокринная стимуляция посредством ФРТ может иметь очень важное значение. Речь идет о цитотрофобласте млекопитающих. Клетки этого отдела плаценты способны не только синтезировать ФРТ, но и связывать его (Goustin et al., 1985). Таким образом, гигантская экспансия плацентарной ткани является, по-видимому, результатом аутокринной стимуляции, поскольку клетки цитотрофобласта способны и производить ФРТ, и реагировать на него.

Варианты рецепторов фактора роста

Известны и другие онкогены, кодирующие белки, которые имитируют рецепторы факторов роста. Онкоген *v-erb-B* вируса эритроblastоза птиц кодирует белок, почти идентичный остаткам 551–1154 человеческого рецептора для эпидермального фактора роста (рис. 20.28) (Yamamoto et al., 1983; Downward et al., 1984). Этот белок представляет

Таблица 20.3. Вирусные и клеточные онкогены и их возможные функции в клетке

Вирусный онкоген	Источник ретровируса	Клеточный протоонкоген	Идентичность, гомология или размеры белка	Локализация в клетке и распространение	Активность	Возможные функции
I. ВАРИАНТ ФАКТОРА РОСТА						
<i>v-sis</i>	Вирус обезьяньей саркомы	<i>c-sis</i>	В-цепь ФРТ 14K	Секретируемый белок	Гомо- или гетеродимер, связывается с рецептором ФРТ	Митогенез Заживление ран Фактор раннего эмбрионального роста (?)
II. ТИРОЗИНКИНАЗЫ И РОДСТВЕННЫЕ <i>c-onc</i>						
<i>v-erb-B</i>	Вирус птичьего эритробластога	<i>c-erb-B</i>	Рецептор ЭФР 170K	Плазматическая мембрана мезодермальных, эктодермальных и энтодермальных клеток	Связывание ЭФР Связывание ТФР Тирозинкиназа	Сигнал транслукции для митогенеза и дифференцировки Стимуляция прорезания зубов, открывания глаз, развития легких
<i>v-fms</i>	Вирус кошачьей саркомы Мак-Донау	<i>c-fms</i>	Рецептор КСФ-1 140K	Плазматическая мембрана макрофагов и внезародышевых клеток	Связывание КСФ-1 Тирозинкиназа	Сигнал транслукции для митогенеза и дифференцировки
<i>v-ros</i>	Вирус птичьей саркомы UR2	<i>c-ros</i>	Рецептор инсулина	Плазматическая мембрана	Связывание инсулина (?)	Сигнал клеточного деления (?)
<i>v-src</i>	Вирус саркомы Рауса	<i>c-src</i>	60K	Цитоплазматическая поверхность мембраны Адгезионные фокальные контакты	Тирозинкиназа Фосфорилирует многие клеточные белки, например винкулин, вентрин	Развитие нейронов и мышц
<i>v-mos</i>	Вирус мышинной саркомы Молони	<i>c-mos</i>	37K	Цитоплазма Эмбриональные семенники и яичники	Серия : тирозинкиназа	
<i>v-abl</i>	Вирус мышинной лейкемии Абельсона	<i>c-abl</i>	150K	Плазматическая мембрана	Тирозинкиназа Фосфорилирует винкулин	Дифференцировка В-клеток (?)
<i>v-fes</i>	Вирус кошачьей саркомы	<i>c-fes</i>	92K	Цитоплазма Плазматическая мембрана	Тирозинкиназа	Развитие макрофагов
<i>v-fps</i>	Вирус саркомы Фуджини	<i>c-fps</i>	98K	Цитоплазма Плазматическая мембрана	Тирозинкиназа	Развитие макрофагов

III. ГТФАЗЫ									
<i>v-ras^{K1}</i>	Вирус мышиной саркомы Кирстена	c-Ki-ras-2 c-N-ras-1	} 21K		Цитоплазматическая поверхность мембраны разнообразных клеток	ГТФаза, связывающая ГТФ + ГДФ	Аденлатициклазная регуляция (?)		
<i>v-ras^{Hs}</i>	Вирус мышиной саркомы Гарвея	N-ras							
IV. ЯДЕРНЫЕ ПРОДУКТЫ									
<i>v-fos</i>	Вирус остеосаркомы FBJ	c-fos	55K		Ядра внезародышевых тканей, кровеносные клетки и макрофаги. Все остальные клетки на более низком уровне	Связывание ДНК с дополнительным белком	Переход от G ₀ к G ₁ Дифференцировка		
<i>v-myc</i>	Вирус птичьего миеломатоза	c-myc N-myc L-myc	} 62-66K		Ядерный матрикс большинства клеток; в некоторых опухолевых и эмбриональных тканях	Связывание ДНК	Продлификация Регуляция синтеза ДНК		
<i>v-myb</i>	Вирус птичьего миеломатоза	c-myb		75K		Ядра кровеносных клеток	Связывание ДНК	Дифференцировка кроветворных клеток	
<i>v-jun</i>	Вирус-17 птичьей саркомы	c-jun	47K; фактору транскрипции AP-1		Ядра большинства клеток	Связывание ДНК	Активация генной экспрессии (?)		
V. ДРУГИЕ									
<i>v-erb-A</i>	Вирус птичьего эритробласто	c-erb-A	Рецептор T ₃ ; гомологичен рецептору глюкокортикоидов		Цитоплазма и ядро	Связывает тироксин	Регуляция метаболизма (?)		

Из Adamson, 1987.

Из Adamson, 1987.

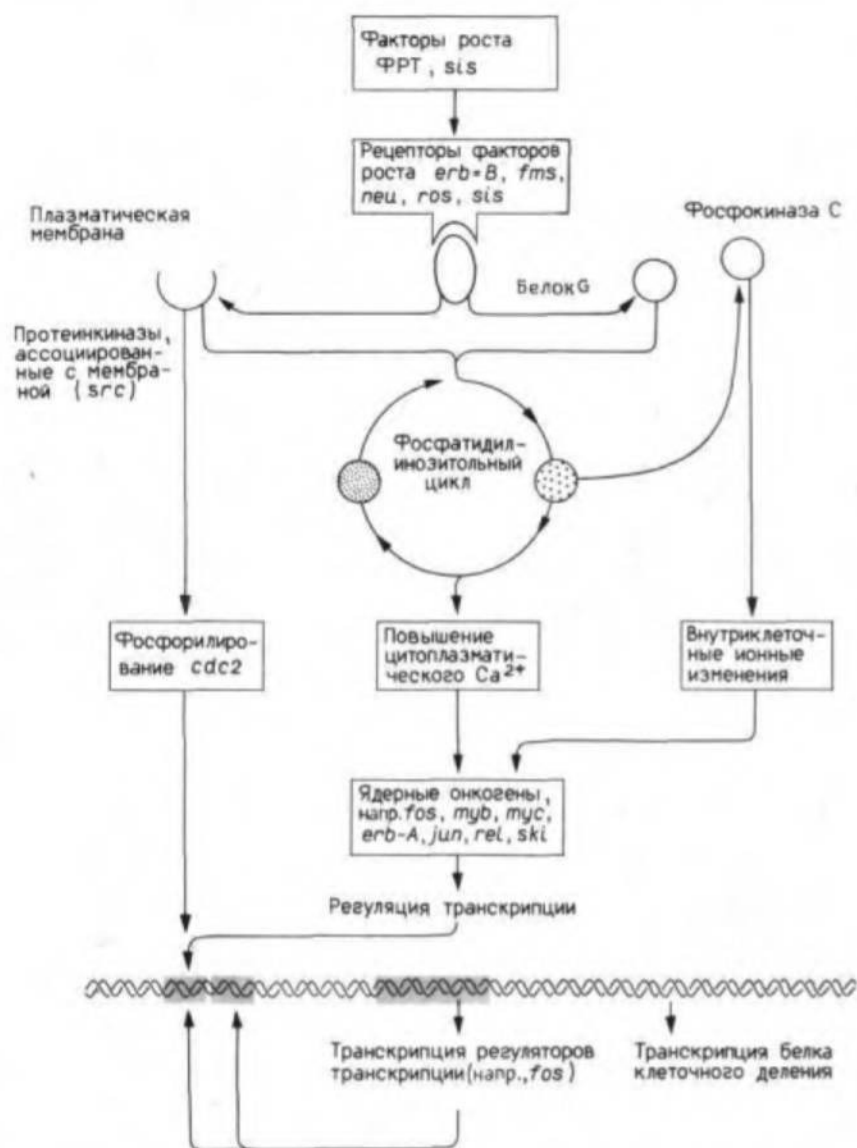


Рис. 20.26. Схема событий, контролирующая деление клетки. Факторы роста (или родственные им онкогенные вещества) связываются со своими специфическими рецепторами. Эти рецепторы начинают либо сами действовать как тирозинкиназа, либо активируют другие молекулы к функционированию в качестве тирозинкиназ. Эти киназы активируют фосфатидилинозитольный цикл, который вводит в действие фосфокиназу C и повышает концентрацию свободных ионов кальция в цитоплазме. Эти факторы регулируют синтез ДНК так же, как и ядерные онкогены. (По Bishop, 1989.)

собой цитоплазматический и трансмембранный домены, и только небольшая его часть действительно связывает ЭФР. Обычно рецептор ЭФР характеризуется незначительной тирозинкиназной активностью, которая сильно возрастает при связывании с ЭФР.

Было обнаружено, что эта тирозинкиназная активность фосфорилирует фосфолипазу C, активируя таким образом фосфатидилинозитольный путь к делению клетки (Margolis et al., 1989; Meisenhelder et al., 1989). Полагают (см. Bell, 1986 и рис. 20.27), что рецепторы факторов роста, такие, как рецептор ЭФР, активируют фермент фосфолипазу C либо прямо, либо косвенно посредством белка G. Фосфолипаза C расщепляет фосфатидилинозитол-4,5-бис-

фосфат на диацилглицерол и инозитолтрисфосфат. Первый из этих продуктов может активировать натрий-протоновый насос, вследствие чего повышается рН внутри клетки, тогда как второй — инозитолтрисфосфат — высвобождает ионы кальция, хранящиеся в эндоплазматическом ретикулеуме. Сочетание повышенного рН и свободного внутриклеточного кальция, как известно, стимулирует деление клетки.

«Усеченный» рецептор ЭФР — продукт онкогена *v-erb-B*, — по-видимому, всегда обладает высокой тирозинкиназной активностью (Nauman et al., 1983). Известно, что эта способность фосфорилировать тирозиновые остатки белка служит сигналом для митоза и коррелирована с трансформацией клеток

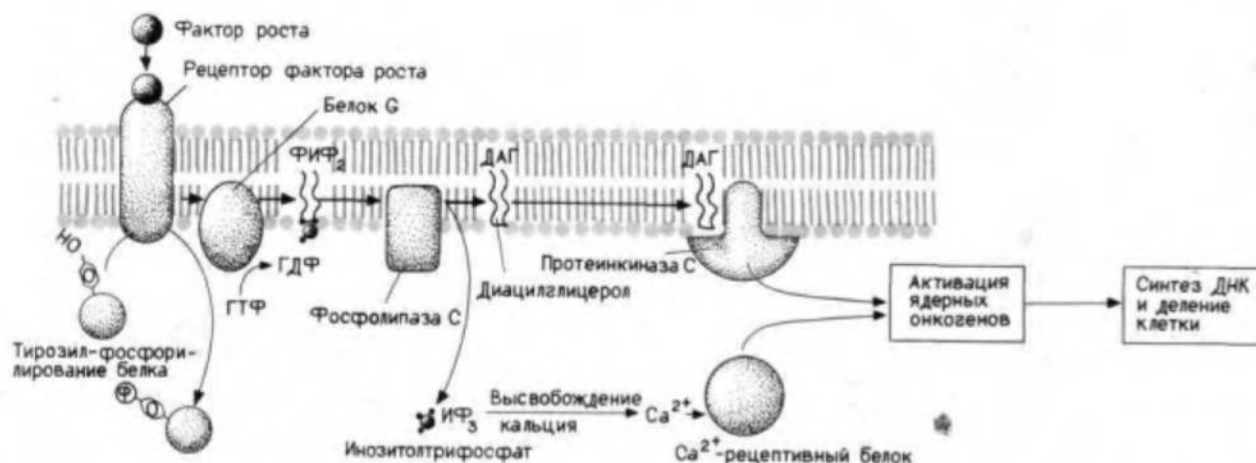


Рис. 20.27. Суммарная модель некоторых изменений, ведущих к делению клетки. Связывание фактора роста с рецептором вызывает активность рецептора тирозинкиназы и активацию фосфолипазы C. Фосфолипаза C расщепляет фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат (ФИФ₂) на инозитолтрифосфат (ИФ₃) и диацилглицерол (ДАГ). ИФ₃ мобилизует кальций из депо эндоплазматического ретикулума, а ДАГ активирует протеинкиназу C. Протеинкиназа C фосфорилирует белки, функционирующие как Na⁺/H⁺-насос. Ионные и метаболические процессы, активируемые этими изменениями, индуцируют экспрессию ядерных онкогенов, таких, как *c-fos* и *c-myc*.

многих типов (Sefton et al., 1980; Klarlund, 1985; Martin-Zanca et al., 1986). Очевидно, домен, связывающий ЭФР в обычном рецепторе, ингибирует его тирозинкиназную активность, и это ингибирование снимается при связывании ЭФР. Белок *v-erb-B* лишен этого связывающего домена и сохраняет свое стимулированное состояние. Таким образом, клетки, содержащие *v-erb-B*, по-видимому, вырабатывают рецептор фактора роста, который постоянно стимулирует клетку к делению даже в отсутствие фактора роста.

Другой онкоген, имитирующий рецептор фактора роста, — это онкоген *v-fms* вируса кошачьей саркомы Мак-Донау. Он имитирует рецептор для КСФ-1 фактора роста, специфичного в отношении

макрофагов и их предшественников. Продукт *v-fms* может связывать КСФ-1 и при этом проявлять тирозинкиназную активность (Scherr et al., 1985). Человеческий протоонкоген для рецептора КСФ-1 может узнаваться кДНК, приготовленной на основе гена *v-fms*; он картирован на длинном плече хромосомы 5 человека. В связи с этим представляет интерес тот факт, что индивиды с делециями в длинном плече хромосомы 5 утрачивают ген рецептора КСФ-1 и характеризуются аномальным созреванием клеток крови (Nienhuis et al., 1985). Экстракопии гена *v-fms* в клетках костного мозга мыши стимулируют злокачественный рост многих линий кроветворных клеток (Heard et al., 1987).

Некоторые другие вирусные онкогены также ко-

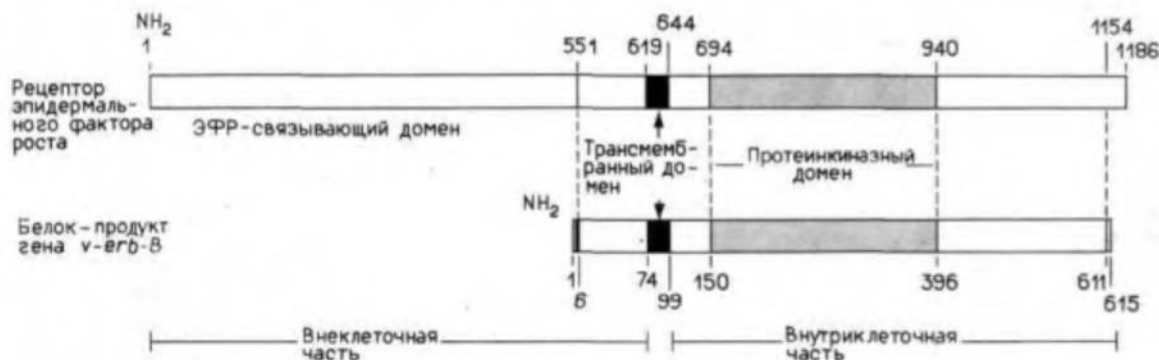


Рис. 20.28. Белок *v-erb-B* как усеченный рецептор ЭФР. Белок *v-erb-B* (внизу) содержит 6 аминокислот, кодируемых вирусным геном (*gag*), которые присоединены к 609 аминокислотам, кодируемым, вероятно, геном карбоксильной половины рецептора ЭФР (вверху). Эта структура представлена протеинкиназным доменом, трансмембранным доменом и небольшой частью внеклеточного домена. (Из Hunter, 1985.)

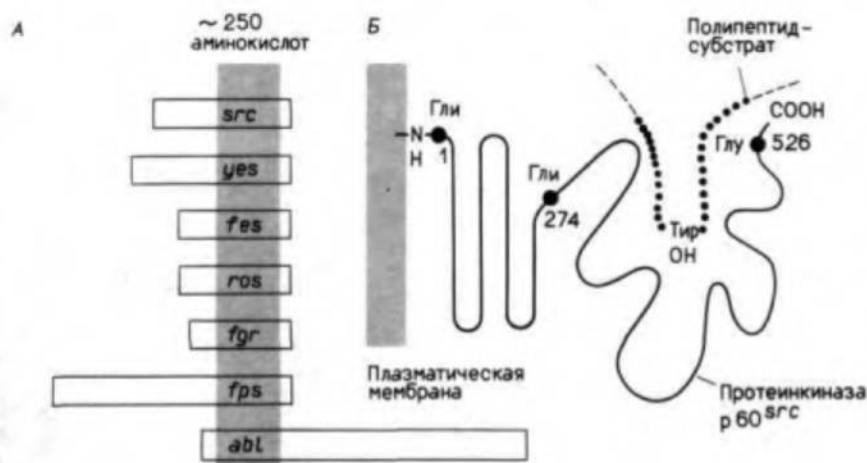


Рис. 20.29. Тирозинкиназная область онкогенных белков. А. Семь белков, кодируемых различными онкогенами. Несмотря на значительные различия в размерах (эти различия отражены в относительной длине отрезков), каждый из белков содержит область (обозначена серым цветом), состоящую примерно из 250 аминокислот, которая катализирует тирозинкиназную реакцию. Б. Протеинкиназа *src* (p60^{src}) состоит из 526 аминокислот, связанных с клеточной мембраной N-концевым остатком. Тирозинкиназный сайт располагается вблизи карбоксильного конца. (По Avers, 1985.)

дируют белки, характеризующиеся тирозинкиназной активностью, однако данными о том, что они гомологичны какому-либо из известных факторов роста, мы не располагаем (рис. 20.29). Примером может служить *v-src* вируса саркомы Рауса. Этот онкоген в инфицированных клетках локализуется на внутренней поверхности плазматической мембраны; если тирозинкиназная активность отсутствует (что имеет место у некоторых мутантов вируса), то он не способен трансформировать клетки (Erikson et al., 1979; Levinson et al., 1980). Белок *c-src* может быть активирован путем сайт-специфического фосфорилирования тирозина. Это фосфорилирование сопровождается активацией рецептора фактора роста тромбоцитов (Piwnicka-Worms et al., 1987; Kmiecik, Shalloway, 1987). Продукт гена *c-src* (вместе с его тирозинкиназной активностью) естественным образом появляется по ходу эмбрионального развития и обычно отсутствует у взрослых организмов (Schartl, Barnekow, 1984). Особенно четко это проявляется при развитии нейральной сетчатки, где он обнаруживается в нейронах по мере их дифференцировки (Sorge et al., 1984).

Большой интерес представляют субстраты этих тирозинкиназ. Существует ряд сообщений о многочисленных и разнообразных белках, которые фосфорилируются этими онкогенами, но до сих пор мы не можем с достаточной степенью определенности назвать субстраты, играющие роль в стимуляции клеточного деления. Для тирозинового фосфорилирования весьма важным субстратом служит сам фермент. Продукты некоторых онкогенов, такие, как белок *src*, белок *v-erb-B* и нормальный рецептор ЭФР, подвергаются **аутофосфорилированию**. Аутофосфорилирование имеет важное значение для повышения активности тирозинового фосфорилирования других субстратов (Weber et al., 1984; Downward et al., 1984). Белок *src* также способен фосфорилировать интегрин: фосфорилированный

интегрин обнаруживается вскоре после инфицирования клетки вирусом саркомы Рауса (Hirst et al., 1984). После того как произойдет инфекция, этот рецептор теряет способность связывать и фибронектин (на внешней стороне мембраны), и талин (на внутренней ее стороне). Ингибирование функции рецептора после фосфорилирования, по-видимому, влияет на морфологию и адгезивные свойства трансформированных клеток. Имеются данные о том, что ген *v-src* фосфорилирует винкулин — один из белков, входящих в состав специализированного адгезионного контакта клетки с субстратом (Sefton et al., 1981).

Белок *src* может также фосфорилировать молекулы, непосредственно участвующие в стимуляции деления клетки. Показано (Draetta et al., 1988), что этот белок способен фосфорилировать *cdc 2*(p34)-субъединицу фактора, стимулирующего созревание (ФСС, или MPF — от maturation promoting factor). Как уже говорилось, p34 играет важную роль в жизни клетки, побуждая ее входить в митоз. Активность белка *src* обусловлена фосфорилированием и выражается в том, что он позволяет клетке перейти из фазы G_2 в фазу М. Таким образом, *src* важен для осуществления деления клетки, и следствием его aberrантной экспрессии будет неуместная стимуляция клеточных делений.

ВАРИАНТЫ ПЕРЕНОСЧИКОВ СИГНАЛА. Некоторые онкогены имитируют элементы, переносящие сигнал, стимулирующий деление, от мембраны к ядру. Изучение таких переносчиков — одна из наиболее противоречивых и волнующих областей в исследовании рака и клеточного роста, поскольку эти продукты онкогенов могут помочь в идентификации гипотетических соединений-переносчиков. Онкоген *v-ras* вирусов сарком Гарвея и Кирстена кодирует связанный с мембраной белок с молекулярной массой 21 000 дальтон, который связывает ГТФ и ГДФ.

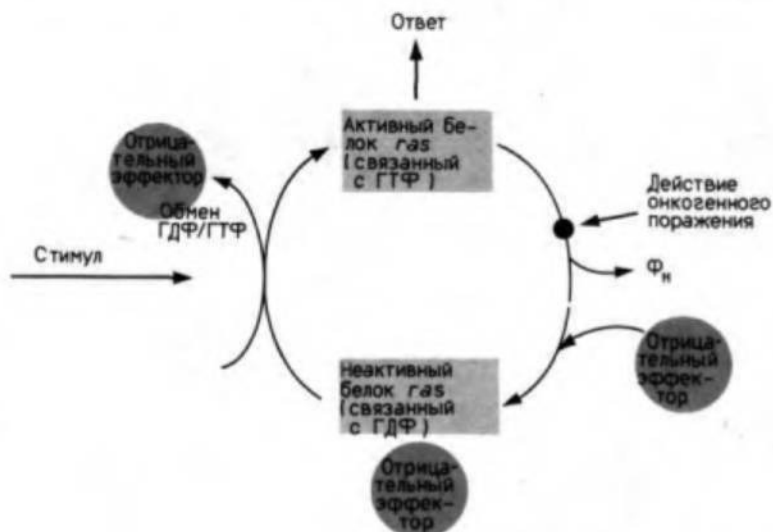


Рис. 20.30. Схема, показывающая, каким образом белок gas может вызвать сверхпролиферацию клеток. Под действием обычного стимула (от рецептора фактора роста) в белке gas (p21) происходит замена ГДФ на ГТФ и он теряет свой отрицательный эффектор. Это изменение активирует белок, и он начинает функционировать. Затем он меняет ГТФ на ГДФ, связывает отрицательный эффектор и становится неактивным. Полагают, что онкогенные поражения препятствуют циклическим изменениям этого белка, вследствие чего белок gas постоянно находится в активном состоянии. (Из Levinson, 1986.)

Эти ГТФ-связывающие белки вовлечены в регуляцию клеточного роста. Связывая ГТФ, белок активируется и начинает контролировать некоторые эффекторные функции, такие, как, например, открытие в клеточной мембране ионных каналов или активация протеинкиназы С (рис. 20.27, 20.30, 20.31). Затем они гидролизуют ГТФ до ГДФ и становятся неактивными до тех пор, пока рецептор гормона не стимулирует их снова. Лакал и др. (Lacal et al., 1986a, b) продемонстрировали, что связывание ГТФ существенно для онкогенной активности белка v-gas,

но уровень гидролиза ГТФ со злокачественной трансформацией клеток не коррелирован.

ВАРИАНТЫ ЯДЕРНЫХ ФАКТОРОВ. Функция последнего класса онкогенов приурочена к тому периоду, когда сигнал к делению клетки уже прошел от мембраны через цитоплазму и воспринят ядром. Эти онкогены кодируют белки, осуществляющие ответ ядра на цитоплазматический стимул, вызывающий митоз. Регуляция клеточного цикла обычно осуществляется в течение фазы G_1 . В это время клетка производит новые мРНК, необходимые для

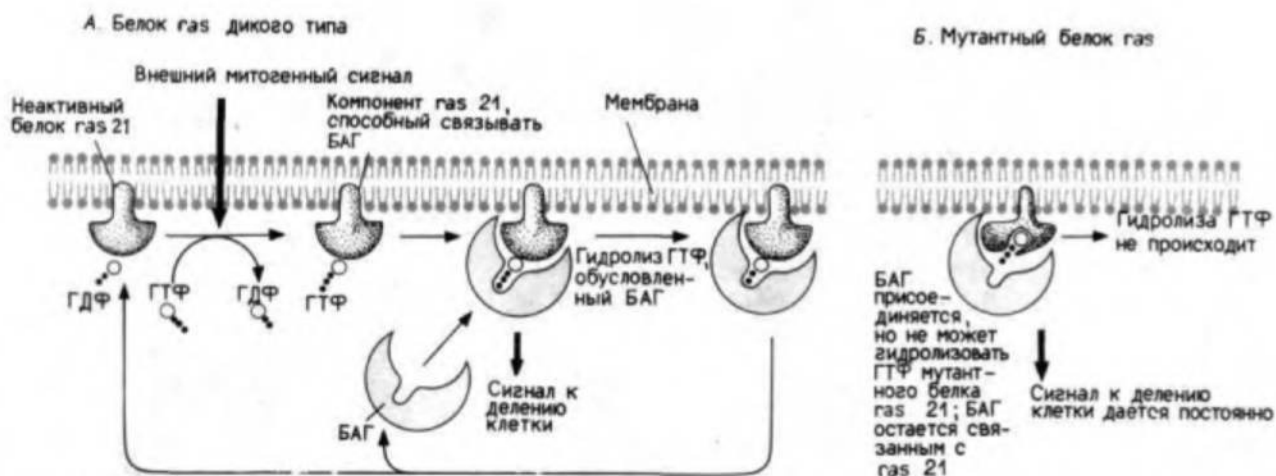


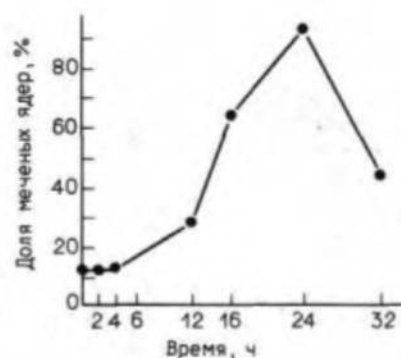
Рис. 20.31. Механизм онкогенеза при участии мутантных белков gas. А. В клетках, содержащих белки gas дикого типа, внешний митогенный сигнал вызывает фосфорилирование ГДФ, связанного с неактивным белком gas. Связанный с ГТФ белок gas способен образовывать комплекс с белком БАГ и трансдуцировать свой сигнал к делению клетки. Белок БАГ также гидролизует ГТФ до ГДФ и покидает белок gas, оказавшийся теперь в неактивной форме. Б. В случае мутантного белка gas белок БАГ присоединяется к мутантной форме gas и обуславливает тем самым передачу митогенного сигнала. Но он, однако, не способен гидролизовать ГТФ, поэтому он остается связанным с белком gas, создавая ситуацию, при которой митогенный сигнал поступает постоянно. (По McCormick, 1989.)

синтеза белков, участвующих в делении; установлено, что около 5% типов мРНК делящихся клеток отсутствует в неделящихся клетках (Williams, Penman, 1975; Lau, Nathans, 1985). Если эти белки, индуцирующие митоз, кодируются онкогенными вирусами, то в клетке они могут содержаться постоянно, пока она инфицирована вирусом. По всей вероятности, подобная ситуация имеет место в случае онкогенов *v-myc* и *v-fos*. Протоонкоген *c-fos* экспрессируется в течение очень короткого периода времени, когда клетка переходит из фазы G_0 в фазу G_1 клеточного цикла, например в случае переноса фибробластов из бессывороточной среды в среду, содержащую сыворотку (Greenberg, Ziff, 1984; Kruijer et al., 1984). Ген *c-fos* может быть активирован ФРТ, интерлейкином-3, фактором роста нервов, КСФ-I в течение пяти минут после связывания их клеточной поверхностью (Gonda, Metcalf, 1984; Kruijer et al., 1985; Conscience et al., 1986). Белок *fos* обнаружен в ядрах стимулированных клеток и связан с ДНК (Sambucetti, Curran, 1986). На самом деле *c-fos* димеризуется с другим протоонкогеном — *c-jun*, образуя человеческий фактор транскрипции AP-1 (Halazonetis et al., 1988; Rauscher et al., 1988). По-видимому, онкоген *v-fos* вируса остеосаркомы FBJ мыши обеспечивает клетку такой же информацией. Если клетки инфицированы онкогеном *v-fos*, они больше не нуждаются для своей пролиферации в ростовых факторах.

Продукт онкогена *v-myc* вируса птичьего миеломатоза связывается с ядерным хроматином (Donner et al., 1982). Клеточные гомологи гена *v-myc* (существует несколько близкородственных генов, составляющих семейство протоонкогенов) синтезируют после стимуляции разнообразными ростовыми факторами короткоживущую мРНК и белковые продукты (рис. 20.32) (Kelly et al., 1983). Как и в случае протоонкогенов *c-fos* продукты гена *c-myc* появляются сразу же, как только клетка переходит из фазы G_0 в фазу G_1 .

Если белок *myc* инактивирован антителами, то клетки не пролиферируют (Studzinski et al., 1986). Однако продукты гена *myc* сами по себе еще не служат достаточным основанием для поддержания клеток в состоянии роста или перехода к злокачественности. Наилучшим объектом для оценки онкогенного потенциала вируса или геновой последовательности часто служат клетки NIH3T3. Эти мышинные фибробласты легко поддерживаются в культуре в состоянии роста до тех пор, пока они не вступят в контакт с соседями со всех сторон и пока будет хватать ростовых факторов в сыворотке, где они растут. Клетки 3T3 избегают старения и становятся практически бессмертными. Однако они не злокачественны. Они сохраняют способность к контактному ингибированию, не растут в суспензии

А



Б

Рис. 20.32. Индукция онкогенного белка *c-myc* в клетках плаценты человека. А. Индукция экспрессии *c-myc* в ядрах культивируемых клеток трофобласта после стимуляции ФРФ во время 0. Б. Экспрессия *c-myc* в пролиферирующих ворсинках хориона плаценты человека, выявляемая с помощью гибридизации *in situ* с радиоактивной ДНК *c-myc*. В центре рисунка располагается зародыш. Область, затемненная радиоактивностью, выявляет местоположение клеток ворсинок цитотрофобласта. (А — из Goustin et al., 1985; Б — из Pfeifer-Ohlsson et al., 1984; фотография с любезного разрешения этих авторов.)

и обычно не образуют опухолей после инъекции мышам. Вместе с тем инсерция в эти клетки онкогена *myc* делает их злокачественными. Если же онкогены *myc* будут включены в первичные (смертные) фибробласты, то фибробласты трансформироваться не будут. Ленд и др. (Land et al., 1983) показали, что трансформация нормальных фибробластов может происходить в том случае, когда в одни и те же клетки встроены и онкогены *ras*, и онкогены *myc*. Очевидно, что в таких случаях злокачественная трансформация зависит от кооперации *myc* с продуктами другого онкогена или протоонкогена.

Как клеточные онкогены вступают на неверный путь

Формирование большей части человеческих опухолей обусловлено все же не вирусами. Существуют другие механизмы, посредством которых протоонкогены приобретают способность трансформировать клетку. Эти механизмы включают мутации, амплификацию генов и перестройку хромосом.

Онкогенез путем мутаций

Еще в начале шестидесятых годов было известно, что мутагены (агенты, вызывающие мутации) в то же время служат канцерогенами (агентами, вызывающими образование злокачественных опухолей). Брюс Эймс (Ames, 1979) показал, что митогенная способность данного вещества прямо пропор-

циональна его способности вызывать опухоли. Каким-то образом молекулы, повреждающие ДНК (судя по их способности индуцировать мутации у бактерий), приводят к формированию опухолей у мышей.

В 1982 г. Ших и Вейнберг (Shih, Weinberg, 1982) трансфицировали клетки NIH3T3, вводя в них ДНК из опухолевых клеток мочевого пузыря человека (рис. 20.33). Некоторые из мышинных фибробластов захватывают человеческую ДНК, в составе которой может оказаться человеческий ген, трансформировавший клетки мочевого пузыря. Клетки NIH3T3, содержащие этот ген, начинали быстро расти и формировать очаги трансформированных клеток, которые затем были изолированы. ДНК этих клеток была выделена, фракционирована и использована для трансфекции другой группы клеток NIH3T3. Снова некоторые из клеток получили человеческий

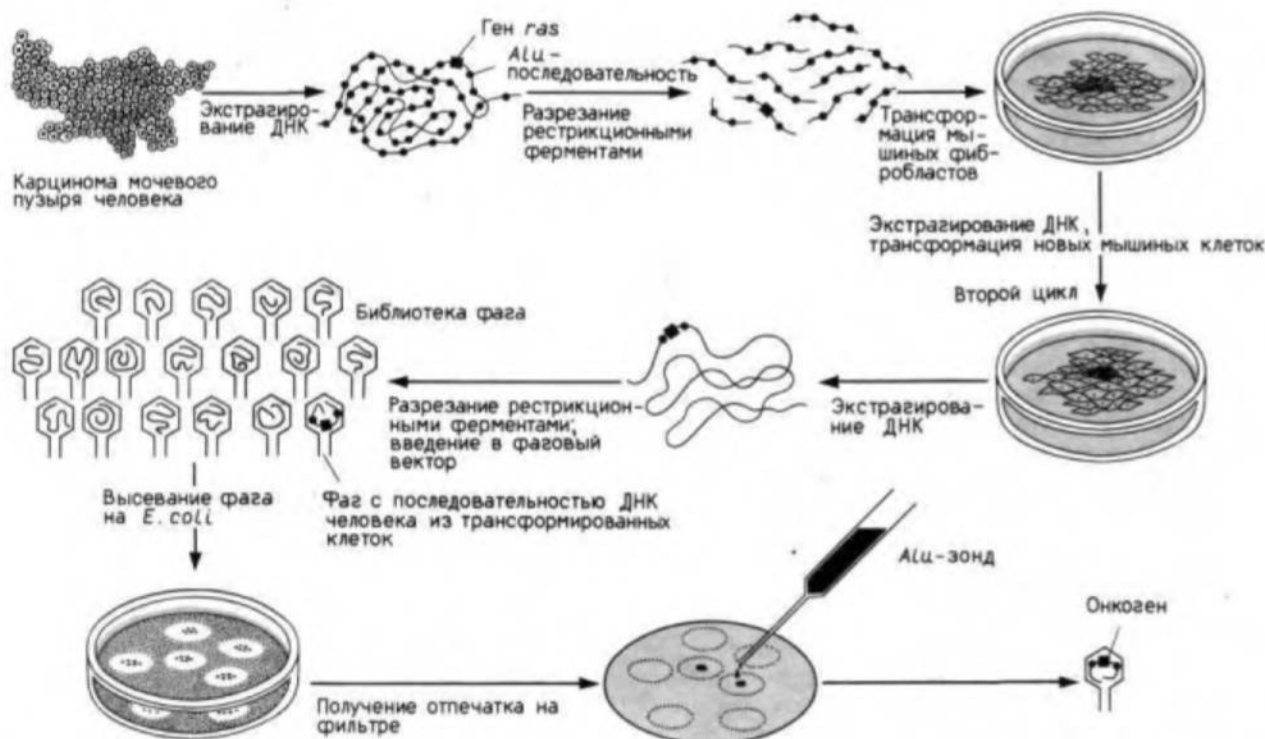


Рис. 20.33. Выделение мутантного гена *ras* из карциномы мочевого пузыря человека. Человеческая ДНК характеризуется наличием коротких повторяющихся сегментов ДНК — *Alu*-последовательностей, располагающихся по всему геному. ДНК из клеток карциномы мочевого пузыря человека экстрагировали, разрезали рестрикционными ферментами и вносили в культуру мышинных фибробластов. Мышинные клетки, включившие онкоген, становились злокачественными и образовывали скопления — клеточные островки. ДНК из этих островков также экстрагировали, расщепляли и вносили в другую чашку с мышинными фибробластами. Когда появились островки, ДНК из их клеток вновь разрезали рестрикционными ферментами и включали в фаговые векторы. Фаги размножались в культивируемых клетках *E. coli*. Когда бактериальные клетки разрушились, ДНК помещали на нитроцеллюлозный фильтр и гибридизовали с радиоактивной *Alu*-последовательностью ДНК. Клоны, содержащие *Alu*-последовательность, выявляли с помощью радиоавтографии. Эта последовательность указывает на человеческое (а не мышинное) происхождение содержащей ее ДНК. Поскольку при этом велась селекция на злокачественность, можно полагать, что эти клоны содержат и онкоген, ответственный за злокачественную трансформацию клеток. Затем было произведено секвенирование человеческой ДНК.

ген, а вместе с ним и трансформированный фенотип. ДНК этих клеток была клонирована, и клоны, содержащие человеческую ДНК, были выявлены путем гибридизации ДНК. Таким образом был изолирован человеческий ген, обуславливающий способность к злокачественному росту. Оказалось, что этот ген является человеческим гомологом онкогена *ras* вируса крысиной саркомы Гарвея и Кирстена. Более того, он отличался от нормального человеческого гена только по одному нуклеотиду (Tabin et al., 1982; Caron et al., 1983). Кодон двенадцатой аминокислоты вместо ГГГ (глицинового) становился ГТГ (валиновым). Результаты экспериментов, в которых использовались другие линии опухолевых клеток человека, показали, что замены аминокислот в положениях 12, 13, 59, 61 или 63 белка, состоящего из 189 аминокислот, могут активировать его трансформирующую способность (Der et al., 1986; Levinson et al., 1986). В сходных экспериментах (Zarbl et al., 1985) крысам с пищей вводили такие хорошо известные мутагены, как нитрозометилмочевина (которая вызывает точковые мутации с заменой гуанина на аденин). Вызванные ими опухоли изолировали, а затем из их клеток выделяли ДНК. В случае опухоли молочной железы, индуцированной нитрозометилмочевинной, в двенадцатом кодоне гена *c-ras* в результате мутации происходила замена Г на А. Было обнаружено, что трансформирующая способность других протоонкогенов также активируется мутациями в кодирующем белок участке этих генов¹.

Мутации, делающие белок *ras* онкогенным, участвуют в ингибировании ГТФазной активности. В норме белок *ras* связывает ГТФ, катализируя его превращение в ГДФ, который остается с ним связанным. Эта реакция в значительной степени стимулируется образованием комплекса белка *gas* с белком, активирующим ГТФазу (БАГ). Этот белок (молекулярная масса его составляет 120 000 дальтон) повышает свою гидролизную активность более чем в 100 раз (Trahey, McCormick, 1987; Gibbs et al., 1988). Таким образом, в течение большей части времени с белком *gas* оказывается связанным не ГТФ, а ГДФ. ГДФ-связанная форма белка *gas* неактивна, а его ГТФ-связанная форма активирует другие белки. Все мутации гена *ras*, делающие его

онкогенным, ингибируют ГТФазную активность БАГ. В этом случае БАГ сохраняет связь с белком *gas*, который благодаря своему ГТФ продолжает активно переносить митогенный сигнал к ядру (рис. 20.30; Cales et al., 1988; McCormick, 1989).

Онкогенез путем амплификации генов

Еще один механизм, посредством которого протоонкогены превращаются в онкогены, — это генная амплификация. Шваб и др. (Schwab et al., 1983) обнаружили, что в клетках нейробластомы (опухоль нервной ткани) человека содержатся многочисленные копии последовательности ДНК, родственные онкогену *v-тус* (рис. 20.34). Этот ген был назван *N-тус* ("N" означает «нерв»). Имеются данные о том, что быстрая пролиферация нейробластомы связана с амплификацией протоонкогена *N-тус* (Seeger et al., 1985). Полагают, что амплифицированные гены транскрибируют большие количества мРНК для белка. Избыток матрицы *тус* обуславливает наличие больших количеств белка, следовательно, часть белка *c-тус* будет оставаться в клетке, хотя в норме он должен разрушаться. Поскольку белок *тус* обычно синтезируется в ответ на сигналы роста, идущие от клеточной поверхности, в случае постоянного присутствия белка *c-тус* ядро будет получать сигналы роста тогда, когда на самом деле их нет.

Онкогенез путем инсерции промотора

Существуют и другие пути, приводящие к нарушению регуляции транскрипции протоонкогена и перепроизводству матриц (а следовательно, и его



Рис. 20.34. Амплификация гена *c-тус* в клетках нейробластомы. ДНК из доброкачественных фибробластов кожи человека и девяти нейробластом человека разрушали рестрикционными ферментами, переносили на нитроцеллюлозные фильтры и гибридизовали с радиоактивной ДНК *тус*. Число генов *тус* в фибробластах кожи оставалось нормальным, тогда как в клетках нейробластом происходила амплификация этих генов. (Из Schwab et al., 1983; фотография с любезного разрешения авторов.)

¹ Это может объяснить и возникновение лейкемии в результате радиоактивного облучения. Стронций-90, долгоживущий радиоактивный изотоп, образующийся при делении ядер атомов, может вместо кальция включиться в растущие кости. В результате он оказывается вблизи клеток красного костного мозга, служащих стволовыми клетками для лимфоцитов и других клеток крови. Высокоэнергетическая эмиссия электронов этим изотопом может послужить причиной индуцированного мутагенеза кроветворных клеток, находящихся в состоянии интенсивного деления.

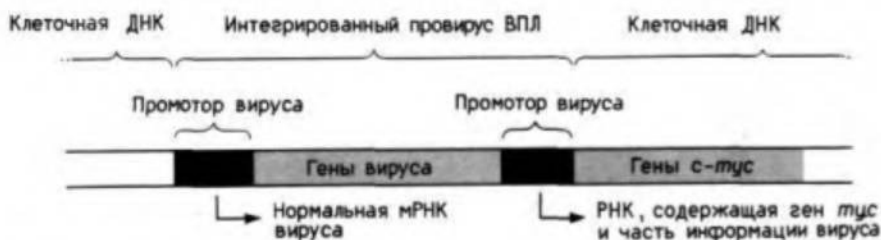


Рис. 20.35. Активация гена *c-мус* за счет промотора вируса птичьего лейкоза (ВПЛ). ВПЛ интегрируется в случайных местах генома хозяина, дуплицируя при этом свой промотор. Если интеграция вируса произошла в области ДНК, прилежащей к гену *c-мус*, то последний попадает под контроль «праворукого» вирусного промотора. (По Hayward et al., 1981.)

белкового продукта). Например, у цыплят некоторые опухолеродные вирусы не несут своих собственных онкогенов, а имеют сильный промотор, встроенный перед протоонкогеном; в результате протоонкоген попадает под вирусный контроль. Такой механизм называется **инсерцией промотора** (Hayward et al., 1981). Вирус птичьего лейкоза (ВПЛ) повышает транскрипцию гена *c-мус* в случае инсерции его промотора вблизи гена. При этом структура хроматина *c-мус* приобретает характерную для высокоактивных генов конформацию, чувствительную к ДНК-полимеразе I (Linial et al., 1985). Таким образом, ген *c-мус* транскрибирует гораздо больше матриц, чем это происходит при нормально идущем синтезе (рис. 20.35).

Онкогенез путем перестройки хромосом

В случае лимфоцитарных опухолей человека часто наблюдается нарушение регуляции гена *c-мус* вследствие **перестройки хромосом** (Croce, 1987). В 1979 г. на хромосомах 14, 22 и 2 были картированы три иммуноглобулиновых гена. Активность этих генов приурочена только к созреванию В-лимфоцитов и плазматических клеток. В клетках лимфомы Беркитта (опухоль, образованная трансформированными В-клетками) в результате транслокации сегмент хромосомы 8 (небольшая часть длинного плеча вблизи конца хромосомы) переносится в область этих генов (рис. 20.36). Было высказано предположение (Croce, 1985), что ген хромосомы 8 вовлечен в процесс регуляции роста, и что этот ген, будучи транслоцирован в эту область генома, попадает под контроль промотора или энхансеров иммуноглобулинового гена. Эта гипотеза подтверждается тремя аргументами. Во-первых, человеческий онкоген *c-мус*, выявляемый с помощью гибридизации *in situ*, локализован в том сайте хромосомы 8, который транслоцируется в эти области иммуноглобулиновых генов. Во-вторых, если из клеток лимфомы Беркитта выделить ДНК и разрезать ее ферментами рестрикции, то фрагменты, содержащие ДНК *c-мус*,

обнаруживаются вместе с генами иммуноглобулинов (Leder et al., 1983). В-третьих, количество мРНК, транскрибированное с этих транслоцированных хромосом, коррелирует с активацией иммуноглобулиновых генов. Если иммуноглобулиновые гены

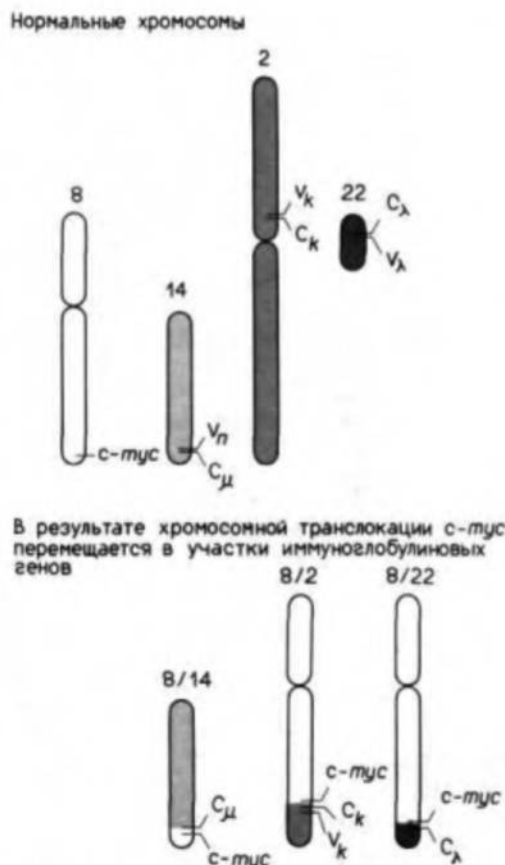


Рис. 20.36. Три хромосомные транслокации, приводящие к возникновению лимфомы Беркитта; в результате каждой транслокации ген *c-мус* (расположенный на хромосоме 8) переносится в один из трех участков иммуноглобулиновых генов (на хромосомах 14, 22 или 2). (По Adams et al., 1985; Fahrlander et al., 1985.)

выключить (это можно сделать, слив клетку лимфомы Беркитта с фибробластом), то в транслоцированной хромосоме ген *c-myc* больше не транскрибируется. Точно так же *c-myc*, по-видимому, не транскрибируется с нормальной хромосомы 8 в клетках лимфомы Беркитта (Nishikura et al., 1983; Croce et al., 1984). Активировать ген *c-myc* можно путем отделения *c-myc* от элементов, обеспечивающих его нормальную отрицательную регуляцию, или путем помещения *c-myc* вблизи энхансера иммуноглобулинового гена. Было обнаружено, что у мыши ген *myc* переносится в результате транслокации к энхансерным элементам иммуноглобулинового гена. Энхансеры стимулируют транскрипцию этих генов *myc*, что приводит к злокачественной трансформации лимфоцитов (Adams et al., 1985; Fahrlander et al., 1985).

Таким образом, протоонкогены могут быть трансформированы в онкогены по крайней мере четырьмя способами:

1. В результате точковых мутаций могут синтезироваться белки, способные нарушать регуляцию клеточного роста.
2. Амплификация протоонкогенов может привести к перепроизводству белкового продукта.
3. Инсерция вирусом нового промотора может нарушить регуляцию транскрипции онкогена, поместив его под вирусный контроль.
4. Транслокация протоонкогена в различные области генома может поместить протоонкоген под контроль различных клеточных промоторов или энхансеров.

Онкогенез путем утраты генов подавления опухолевого роста (генов-супрессоров)

Помимо перечисленных выше четырех механизмов онкогенеза существует еще пятый механизм, включающий утрату ингибитора клеточных делений. В течение нескольких десятилетий было известно, что есть семьи с предрасположенностью к некоторым видам опухолей (Knudson, 1971, 1976). Одна из таких опухолей — ретинобластома — представляет собой опухоль сетчатки и имеет как спорадическую, так и наследственную форму. Среди членов семей, в роду которых наблюдается это заболевание, обнаружено отсутствие определенного участка в длинном плече хромосомы 13 (Benedict et al., 1983). Было высказано предположение, что именно в этой области локализован ген устойчивости к ретинобластоме и что члены упомянутых семей наследуют только один нормальный аллель устойчивости к ретинобластоме, тогда как большинство людей имеют по два таких гена на клетку. Любая соматическая мутация, нарушающая функцию этого единственного оставшегося аллеля дикого типа, может стать

причиной того, что индивидуальная клетка продолжит деления и даст начало опухоли.

Анализ образцов ДНК детей с такой опухолью показал, что почти все их клетки гетерозиготны по этой области (т.е. имеют только один функциональный аллель на клетку), но что в самих опухолевых клетках функциональных аллелей нет (Cavane et al., 1983; Friend et al., 1986; Horowitz et al., 1990). Утрата генов-супрессоров ретинобластомы, называемых *RBI*, может быть вызвана точковой мутацией или делецией. Для подавления клеточного деления клетке нужна, по-видимому, только одна копия этого гена. Таким образом, *RBI* можно считать геном-супрессором опухоли, полная утрата которого запускает онкогенез.

Белок, кодируемый этим геном, представляет собой фосфопротейн с молекулярной массой 105 килодальтон, способный связывать ДНК, и фосфорилирование которого зависит от стадии клеточного цикла (Lee et al., 1987). Белок RB локализован в ядре и относительно нефосфорилирован в покоящихся клетках (находящихся в фазах G_1 или G_0). Однако во время фазы S почти весь белок становится фосфорилированным по нескольким сериновым и треониновым сайтам (DeCarpio et al., 1989; Buchkovich et al., 1989; Chen et al., 1989). Возможно, что дефосфорилированная форма белка RB блокирует входение клетки в фазу S, а фосфорилирование белка устраняет этот блок. (Так же, как этот блок устраняло бы и отсутствие белка.) Такая модель прямо связана с гипотезой контроля клеточного деления протеинкиназами. Ген *RB* был клонирован, и его введение в культивируемые клетки ретинобластомы вызывало замедление их роста и восстановление его нормального характера (Huang et al., 1988). Аномалии этого гена обнаружены не только в клетках ретинобластомы, но и в некоторых других опухолях. Последние данные (Robbins et al., 1990) свидетельствуют о том, что функционирование белка RB вызывает ингибирование транскрипции гена *c-fos*. Последний кодирует фактор транскрипции, необходимый для перехода клетки из фазы G_0 в фазу G_1 . Таким образом, белок RB предотвращает деление клеток.

Важность белка RB подтверждается также тем, что он служит мишенью для трансформирующих белков разных опухолевых вирусов. Высокомолекулярный Т-белок вируса SV-40, белок E1A аденовируса и, вероятно, белок E7 вируса папилломы человека, — все они связываются с нефосфорилированным (предположительно, активным) белком RB (Cooper, Whyte, 1989). Эти белки опухолевых вирусов могут проявлять свое действие путем функционального устранения клеточного белка RB, следствием чего являются непрекращающиеся клеточные циклы.

Злокачественный фенотип часто оказывается результатом многих мутаций. В культивируемых клетках для появления злокачественности необходимы, как это уже обсуждалось ранее, по крайней мере два гена (например, ген *ras*, кодирующий цитоплазматический белок, и ген *myc*, кодирующий какой-то ядерный фактор). В случае некоторых типов злокачественных опухолей, таких, например, как ретинобластома, достаточно, по-видимому, удаления всего лишь одной пары генов, для того чтобы клетка малигнизировалась. Однако в большинстве случаев образование опухоли представляет собой более сложный процесс, и малигнизация клеток включает как активацию некоторых онкогенов, так и элиминацию опухолевых генов-супрессоров, например гена *RBI*. Такая ситуация характерна для медленно растущих опухолей, которые проходят в своем развитии ряд стадий. Фогельштейн и др. (Vogelstein et al., 1989) провели исследование хромосом в ходе развития рака прямой кишки. В этом случае клетки, утратившие часть хромосомы 5, переходят к более быстрому росту и становятся незлокачественными аденомами. Переход от аденомы к карциноме (когда клетки становятся злокачественными и проникают в стенку прямой кишки) совпадает с активацией гена *ras* путем мутации и утратой некоторых частей хромосом 18 и 17. Поскольку обе копии гена-супрессора опухоли должны подвергнуться делеции, необходимо, чтобы произошло не менее дюжины хромосомных изменений, прежде чем нормальная клетка трансформируется в злокачественную опухолевую.

Продукты этих генов-супрессоров опухоли могут быть соотнесены с фенотипами, которые экспрессируют трансформированные клетки. Ген-супрессор опухоли, локализованный на хромосоме 18, идентифицирован (Fearon et al., 1990); оказалось, что он сходен с известными генами молекул клеточной адгезии N-МКА и фасцилина II. Этим можно объяснить анархизированную морфологию ткани аденомы и карциномы, дедифференцировку их клеток и нарушение нормальных клеточных контактов. Ген-супрессор опухоли обнаружен в клетках почки хомячка; вероятно, он связан с подавлением ангиогенеза (см. гл. 6). В случае делеции этого гена клетка приобретает способность секретировать фактор, индуцирующий формирование кровеносных сосудов (Rastinejad et al., 1989).

Не всегда одни и те же гены, подавляющие развитие опухоли, активны в одной и той же клетке. Так, ген-супрессор опухоли, локализованный на хромосоме 17, который также выделен, не обнаружен при разных типах рака прямой кишки и в мелкоклеточной карциноме легкого. *RBI*-ген-супрессор опухоли не влияет на образование этих опухолей, но имеет важное значение для остановки

роста остеосарком. Корреляция различных событий, происходящих на уровне хромосом, с развитием клетки в направлении злокачественности является многообещающим способом диагностики стадии развития опухоли и предсказания возможности злокачественной трансформации клетки.

Старение

В процессе развития организм проходит путь от стадии одноклеточной зиготы к зрелости. Но что происходит потом? Является ли старение также запрограммированным событием? Ответ на этот вопрос неоднозначен, однако все соглашаются с утверждением, что в возрастных изменениях важную роль играют факторы, регулирующие развитие. Старение предполагает прогрессирующую и необратимую утрату функций, что повышает вероятность смерти. Эти изменения могут быть постепенными (как у человека) или внезапными и резкими (как у поденок или лососей). Кроме того, не все изменения, связанные со старением, происходят одновременно. Многие животные не доживают до того возраста, когда у них появляются признаки старения. Дожить до такого возраста — привилегия тех, кто находится на вершине пищевых пирамид. Полевая мышь (*Mus musculus*) в лабораторных условиях живет около 3–4 лет, но в природе мыши этого возраста не встречаются никогда. Свыше 99% мышей погибают, не «отметив» свой первый день рождения. Мыши достигают половой зрелости в возрасте около 6 нед и максимальных размеров в пределах 3 мес. Даже период беременности длится у них только 20 дней.

Можно полагать, что последовательность событий при старении регулируется ходом развития. Особенно четко эта зависимость прослеживается у поденок и лососевых рыб, погибающих практически сразу же после спаривания, но и другие организмы дают достаточно показательные примеры. В человеческих популяциях благодаря успехам в области здравоохранения и развитию медицинской науки значительно увеличилась продолжительность жизни отдельного человека по сравнению с ожидаемой (**ожидаемая продолжительность жизни**); однако это не увеличило **максимальную продолжительность**, являющуюся видовым признаком. Едва ли можно ожидать, что человек проживет намного больше 95 лет. На рис. 20.37 представлены кривые ожидаемой продолжительности жизни для нескольких человеческих популяций. Во всех случаях максимальная продолжительность жизни составляет 90–100 лет. Кривые для наиболее благополучных популяций, в которых инфекционные заболевания как основной фактор смертности сведены на нет, приближаются к идеальной «прямоугольной» кривой, отражающей

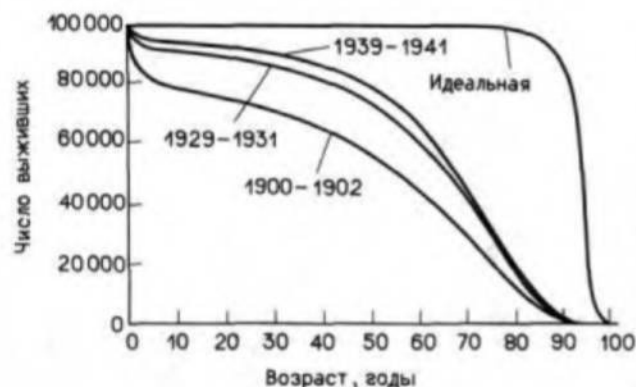


Рис. 20.37. Кривые выживания белых мужчин-граждан США — в разные периоды американской истории. Верхняя кривая — условная идеальная кривая, отражающая ситуацию, в которой не учитывается смерть от несчастных случаев или болезней, и принимается во внимание лишь смерть, наступившая в результате физиологического старения. Три нижние кривые свидетельствуют о том, что, несмотря на улучшение состояния здравоохранения от 1900 к 1941 году, продолжительность жизни самых старых индивидуумов не изменилась. (По Nauflick, 1980.)

условия, при которых продолжительность жизни всех индивидуумов достигает биологически обусловленных пределов. Чем более неблагоприятна популяция, тем больше особей умирает до достижения этого возраста. На протяжении большей части истории человечества средняя продолжительность жизни составляла 35–40 лет. (Такой продолжительностью характеризовались некоторые сообщества в США еще в 1902 г.) В текущем столетии ожидаемая продолжительность жизни в США достигла среднего значения 74,6 года, но *максимальная* продолжительность жизни не изменилась.

Медавар и некоторые другие исследователи (см. Cutler, 1979) считают, что эволюционный прессинг работает на отбор таких сроков жизни, которые бы давали возможность организму оставить потомство, а в некоторых случаях и вырастить его, после чего он погибает. Условия, определявшие эволюцию разных животных, варьируют. В табл. 20.4 приведена максимальная продолжительность жизни у приматов. Человек (вероятно, наиболее долгоживущее существо из всех когда-либо населявших Землю млекопитающих) характеризуется продолжительностью жизни в 14 раз большей, чем самый короткоживущий из приматов. Генетический контроль над продолжительностью жизни очевиден и в случае некоторых мутаций, следствием которых является преждевременное старение (Brown, 1985). При **прогерии** (синдроме Хатчинсона-Джилфорда) признаки старения наблюдаются в течение первого года жизни ребенка. Когда эти дети умирают (обычно от сердечной недостаточности в возрасте 12 лет), ока-

Таблица 20.4. Максимальная продолжительность жизни некоторых приматов

Вид	Максимальная продолжительность жизни, годы
Тупайя	7
Игрунка	15
Беличья обезьяна	21
Макак резус	29
Павиан	36
Гиббон	32
Орангутан	50
Горилла	40
Шимпанзе	45
Человек	95

Из Cutler, 1979.

зывается, что их кожа, распределение волос и жира несут признаки, характерные для пожилых.

Старение сопровождается многочисленными изменениями, и хотя установить корреляцию этих изменений с возрастом не составляет особого труда, очень сложно определить, какие из них служат причиной старения, а какие — следствием. Природа некоторых изменений представляется органической, они вызываются постепенным накоплением в организме токсичных веществ. Примером может быть атеросклероз («отверждение» стенок артерий), при котором отложение холестерина на стенках артерий может блокировать ток крови. Первопричиной других возрастных явлений служат изменения на уровне клеток, например изменения иммунного клеточного ответа в стареющем организме. И пожилые люди, и старые мыши подвержены инфекциям (их иммунный ответ не достаточен для разрушения чужеродных организмов) или аутоиммунным заболеваниями (при которых реакция иммунной системы направляется против собственного тела). Причину этих явлений можно проследить до перерождения тимуса. По мере старения организма ткань тимуса постепенно замещается жировой тканью. Уровень гормонов тимуса снижается и к 60 годам их практически невозможно выявить. Одновременно у пожилых людей снижается число Т-клеток (Bender, 1985), причем эти старые Т-клетки не могут осуществлять своих функций так эффективно, как Т-клетки более молодых особей. Т-клетки пожилых здоровых индивидуумов, стимулированные антигенами или митогенами, что в норме вызывает деление Т-клеток, вдвое по сравнению с Т-клетками молодых индивидуумов снижают свою митотическую активность (Weksler, 1983). Таким образом, пожилые люди обладают меньшим количеством Т-клеток, и эти клетки менее активны. Поскольку функции Т-клеток направлены как на разрушение чужеродных орга-

низмов, так и на предотвращение любого иммунного ответа, направленного против собственных тканей, утрата Т-клеток может оказаться важным фактором старения человека.

В случае В-клеток (клеток, ответственных за синтез антител) также наблюдается и снижение их числа, и снижение их синтетической активности по мере старения организма. Например, наибольшая частота заболевания столбняком среди пожилых людей объясняется недостатком противостолбнячных антител в сыворотке этих людей. Подтверждением служат эксперименты Кишимото и его коллег (Kishimoto, 1982), которые культивировали В-клетки молодых и старых доноров с Т-клетками человека, недавно получившего инъекцию живой вакцины с целью поднять у него титр противостолбнячных антител. «Старые» В-клетки синтезировали гораздо меньше антител против столбнячного токсина, чем «молодые». Дальнейшие исследования показали, что этот результат отчасти является следствием пятикратного уменьшения числа В-клеток, способных реагировать на столбнячный антиген.

Дефект Т-клеток и В-клеток, вероятно, связан с клеточным делением и способностью реагировать на экзогенные факторы роста. Стимулированные антигеном Т-клетки старых мышей и пожилых людей имеют меньше рецепторов для фактора роста Т-клеток интерлейкина-2 и сниженную способность к «кэпсингу» своих поверхностных рецепторов (Noronha et al., 1980; Brohee et al., 1982). Те же «старые» Т-клетки, которые еще способны делиться, характеризуются значительно более длительным временем деления и часто не заканчивают первого деления (Hefton, Weksler, 1981; Hefton et al., 1980).

Поскольку старение в значительной степени может быть обусловлено подобными клеточными процессами, одним из основных способов изучения этого явления стали наблюдения над изменениями фибробластов, культивируемых вне организма. В отличие от большинства незлокачественных эпителиальных, нервных клеток и лимфоцитов, не растущих в культуре, фибробласты обладают способностью делиться примерно один раз в сутки. Среда, в которой культивируются эти клетки, поддерживается постоянной, поэтому закономерен вопрос, будут ли они подвергаться старению без воздействия со стороны стареющих иммунной, сердечно-сосудистой и эндокринной систем. Хейфлик и Мурхед (Hayflick, Moorhead, 1961) обнаружили, что фибробласты в культуре действительно подвергаются своего рода старению. Эти авторы показали, что культивируемые фибробласты, полученные от человеческого эмбриона, имеют определенную ограниченную продолжительность жизни, которую можно разделить на три стадии (рис. 20.38). Первая — стадия медленного роста, когда происхо-

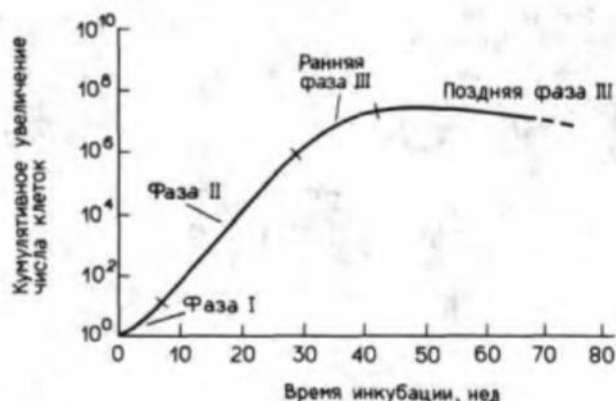


Рис. 20.38. Жизненный цикл культивируемых диплоидных фибробластов человека. После lag-фазы (фаза I) наступает период быстрого логарифмического роста (фаза II), затем клетки прекращают делиться (фаза III). (Из Matsumura et al., 1979.)

дит адаптация клеток к условиям культивирования. За этой lag-фазой следует фаза логарифмического роста, когда клетки делятся каждые 21 ч. Через 40–50 делений клеточный цикл удлиняется. Затем клетки прекращают деление и задерживаются в фазе G_1 клеточного цикла. Некоторые из них не «подчиняются» такой участи и путем какого-то пока еще неизвестного механизма дают «бессмертные» клеточные линии, большая часть которых (за исключением таких клеток, как NIN3T3) становится злокачественными.

Как и следовало ожидать, фибробласты, полученные от пожилых индивидуумов, делятся на протяжении меньшего периода времени, чем фибробласты, полученные от молодых (Schneider, Mitsui, 1976; Martin et al., 1986) и характеризуются более длинным клеточным циклом (около 24,3 ч). Кроме того, представляется, что фибробласты «запоминают», сколько делений они уже совершили. Если человеческие фибробласты, замороженные на несколько лет после их двадцатого деления, возвратить в нормальные условия, то они делятся еще примерно 30 раз. «Часы», определяющие ход событий при старении, находятся, по-видимому, в ядре. Магглтон-Харрис и Хейфлик (Muggleton-Harris, Hayflick, 1976) трансплантировали ядра «молодых» (10 делений) фибробластов в энуклеированную цитоплазму «старых» (30 делений) фибробластов, и наоборот. Число последующих делений в таких гибридных клетках контролировалось ядрами (рис. 20.39).

В чем причины прекращения делений? Было показано (Phillips et al., 1984), что по мере того, как фибробласты проходят повторные клеточные деления, они утрачивают способность реагировать на нормальные физиологические стимуляторы митозов фибробластов — ФРТ, ЭФР, инсулин и трансферрин.

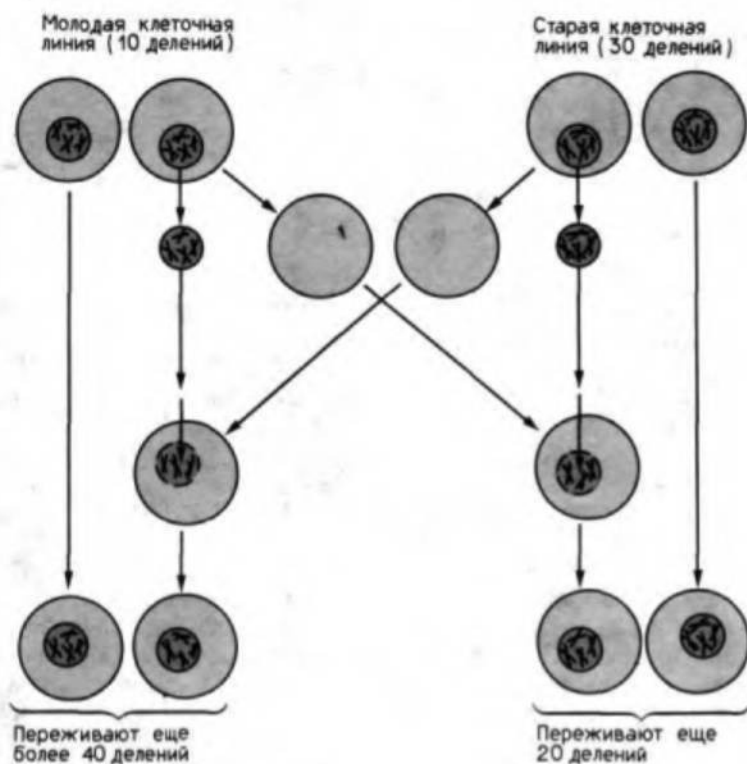


Рис. 20.39. Ядерный контроль старения. При трансплантации старых ядер в молодые клетки и наоборот возраст ядра, а не цитоплазмы контролирует число последующих делений. (Из Hayflick, 1980.)

Из рис. 20.40 видно, что молодые клетки с легкостью переходят к синтезу ДНК после стимуляции этими экзогенными факторами роста, тогда как клетки старшего возраста не реагируют на их даже в 1000 раз большую концентрацию. Несмотря на то что число рецепторов ЭФР с возрастом, очевидно, не изменяется, их способность фосфорилировать себя и другие белковые субстраты резко падает (Carlin et al., 1983; Phillips et al., 1983). Критическое значение может иметь индукция белка *fos*. Этот фактор транскрипции обычно индуцируется фактором роста тромбоцитов и экспрессируется при переходе клетки от G_0 к G_1 . В старческих клетках ген *fos* не транскрибируется и клетка необратимо погружается в состояние G_0 (Seshardi, Campisi, 1990). Для фибробластов больных с определенными старческими синдромами также характерна сниженная реакция на ЭФР и ФРТ (Bauer et al., 1986). По-видимому, старение в значительной степени связано с неспособностью клеток отвечать на экзогенные факторы, необходимые для роста и поддержания организма.

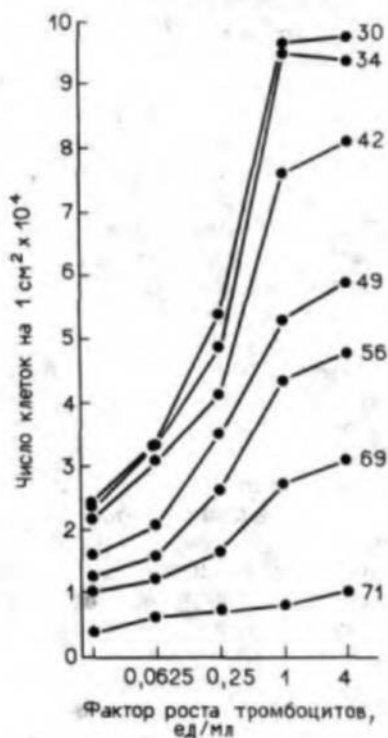


Рис. 20.40. Способность культивируемых человеческих фибробластов отвечать на фактор роста тромбоцитов (ФРТ). Через два дня культивирования добавлен ФРТ. Молодые клетки (прошедшие до 42 циклов) активно реагируют на относительно небольшие количества ФРТ, для сравнительно пожилых клеток (49–69 циклов) требуется большее количество ФРТ, а очень старые клетки (71 цикл) вообще не реагируют на ФРТ. (Из Phillips et al., 1984.)

Дополнительные сведения и гипотезы

Механизмы старения

Мы не знаем, какие причины вызывают старение клеток. Один из возможных механизмов предлагает теория **соматических мутаций** (Burnet, 1974; Holliday, Kirkwood, 1981), согласно которой считают, что с возрастом, по мере того как клетки делятся, происходит постепенное накопление мутаций. Теория **ошибок в синтезе белка** (или **катастрофы ошибок**) (Orgel, 1973) постулирует, что ошибки в белоксинтезирующем аппарате клетки сами по себе достаточны для возникновения эффектов старения. При этом трудно провести границу между этими теориями, поскольку, если справедлива модель катастрофы ошибок, то следует ожидать немедленно появления новых соматических мутаций в результате неправильного синтеза ДНК-полимеразы (Holliday, Kirkwood, 1983). Причиной таких мутаций (будь они общего происхождения или вызваны ошибочным синтезом белка) могут служить свободные радикалы или другие молекулы, способные вызвать нарушения в структуре ДНК. Между продолжительностью жизни вида-донора клеток и способностью поврежденной ДНК к репарации (Nettel et al., 1984) установлена корреляция, однако другие исследователи (Krystal et al., 1983) не обнаружили снижения активности репарации по мере старения организма, являющегося источником клеток.

В соответствии с приведенными выше моделями

Характер роста организма можно изучать на любом уровне — от молекулярного до организменного. Поскольку различные методические и концептуальные подходы препятствуют объединению этих направлений исследования, представления о явлении роста у физиологов, анатомов и специалистов в области клеточной биологии различаются. Биологи развития должны учитывать все эти разнообразия концепций роста и стремиться к их максимальному синтезу. Появившееся в восьмидесятых годах учение об онкогенах создало основы для интеграции представлений о росте у клеточных биологов и физиологов. Можно полагать, что в недалеком будущем с позиции этих новых идей можно будет объяснить ускорения аллометрического роста и другие явления на организменном уровне. Во всяком случае утверждение Джозефа Нидхема, высказанное им в 1951 г., справедливо и сегодня:

«До тех пор, пока нам не удастся связать условно выделенные уровни организации, сохранится определенная бессмысленность в отноше-

старение оказывается результатом весьма случайных атак на ДНК. Вместе с тем не так давно получены данные о том, что в определенный момент жизни клетки ядро синтезирует анти-пролиферативные мРНК, которые активно препятствуют дальнейшим делениям (Lumpkin et al., 1986). Несколько ранее Перейра-Смит и др. (Pereira-Smith et al., 1985) обнаружили, что связанный с мембраной белок, выявляемый только в старческих клетках, при переносе его в молодые клетки ингибирует инициацию синтеза ДНК. Это свидетельствует о существовании «гена старения». Лампкин и др. (Lumpkin et al., 1986) выделили поли(А)-содержащую цитоплазматическую РНК (предположительно, мРНК) из молодых и старых человеческих фибробластов и инъецировали ее в цитоплазму молодых клеток, рост которых был приостановлен удалением сывороточных факторов роста из культуральной среды. После внесения сывороточных факторов те клетки, которым была сделана микронъекция «молодой» мРНК, снова приступали к делению (97% от контроля), тогда как клетки, в которые инъецировали «старую» мРНК, не переходили к делению (24% контрольного значения). Таким образом, не исключено, что старение представляет собой не случайный клеточный процесс, но процесс, находящийся под активным контролем в ходе развития организма.

нии генетической предопределенности размеров и формы или математических уравнений спиралей или многогранников. Объединенная наука о жизни должна с неизбежностью искать пути, которые позволят понять, каким образом один уровень связан с другими».

ЛИТЕРАТУРА

- Adams J. M. and 7 others. (1985). The *c-myc* oncogene by immunoglobulin enhancers induce lymphoid malignancy in transgenic mice, *Nature*, **318**, 533–538.
- Adamson E. (1987). Oncogenes on development, *Development*, **99**, 449–471.
- Adebonojo F. O. (1975). Studies on human adipose cells in culture: relation of cell size and cell multiplication to donor age, *Yale J. Biol. Med.*, **48**, 9–16.
- Alberch P., Gould S. J., Oster G. F., Wake D. B. (1979). Size and shape in ontogeny and phylogeny, *Palaeobiology*, **5**, 296–317.
- Ames B. (1979). Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer, *Science*, **104**, 587–593.

- Avers C.M. (1985). Molecular Cell Biology, Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA.
- Baserga R. (1985). The Biology of Cell Reproduction, Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Bauer E.A., Silverman N., Busick D.F., Kronenberg A., Deuel T.F. (1986). Diminished response of Werner's Syndrome fibroblast to growth factors PDGF and EGF, *Science*, **234**, 1240-1243.
- Beemon K., Hunter T. (1977). In vitro translation yields a possible Rous sarcoma virus *src* gene product, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **74**, 3302-3306.
- Bell R.M. (1986). Protein kinase C activation by diacylglycerol second messengers, *Cell*, **45**, 631-632.
- Bender B.S. (1985). B lymphocyte function in aging, *Rev. Biol. Res. Aging*, **2**, 143-154.
- Betsholtz C., Westermarck B., Ek B., Heldin C.H. (1984). Coexpression of a PDGF-like growth factor and PDGF receptors in a human osteosarcoma cell line: Implications for autocrine receptor activation, *Cell*, **39**, 447-457.
- Bohmann D., Bos T.J., Admon A., Nishimura T., Vogt P., Tjian R. (1987). Human proto-oncogene *c-jun* encodes a DNA binding protein with structural and functional properties of transcription factor AP-1, *Science*, **238**, 1386-1392.
- Brohee D., Kennes B., Neve P. (1982). Increased stability of E-rosettes and restricted capping of sheep erythrocytes by lymphocytes of aged humans, *Mech. Aging Dev.*, **18**, 47-52.
- Brook C.G.D. (1972). Evidence for a sensitive period in adipose-cell replication in man, *Lancet*, **2**, 624-627.
- Brooks W.K. (1886). Report on the Stomatopoda collected by H.M.S. Challenger, Challenger Report, **16**, 1-114.
- Brown W.T. (1985). Genetics of human aging, *Rev. Biol. Res. Aging*, **2**, 105-114.
- Bruce S.A., Deamond S.F., Tso P.O.P. (1986). In vitro senescence of Syrian Hamster mesenchymal cells of fetal to adult origin: Inverse relationship between in vivo donor age and in vitro proliferative capacity, *Mech. Aging Dev.*, **34**, 151-173.
- Brugge J.S., Erikson R.L. (1977). Identification of a transformation-specific antigen induced by an avian sarcoma virus, *Nature*, **269**, 346-348.
- Bullough W.S., Laurence E.B. (1960). The control of epidermal mitotic activity in the mouse, *Proc. R. Soc. (London)*, **B**, **151**, 517-536.
- Bullough W.S., Laurence E.B., Iverson O.H., Elgjo K. (1967). The vertebrate epidermal chalone, *Nature*, **214**, 578-580.
- Burnet F.M. (1974). Intrinsic Mutagenesis: A Genetic Approach to Aging, Wiley, New York.
- Capon D.J., Chen E.Y., Levinson A.D., Seeburg P.H., Goeddel D.V. (1983). Complete nucleotide sequences of the T24 human bladder carcinoma oncogene and its normal homologue, *Nature*, **302**, 33-37.
- Carlin C.R., Phillips P.D., Knowles B.B., Cristofalo V.J. (1983). Diminished in vitro tyrosine kinase activity of senescent human fibroblasts, *Nature*, **306**, 617-620.
- Cohen S., Carpenter G., King L., Jr. (1980). Epidermal growth factor-receptor protein kinase interaction, *J. Biol. Chem.*, **255**, 4834-4842.
- Conscience J.-F., Verrier B., Martin G. (1986). Interleukin-3-dependent expression of the *c-myc* and *c-fos* proto-oncogenes in hemopoietic cells, *EMBO J.*, **5**, 317-323.
- Copeland N.G., Zelenetz A.D., Cooper G.M. (1979). Transformation of NIH/3T3 cells by DNA of Rous sarcoma virus, *Cell*, **17**, 993-1002.
- Croce C.M. (1985). Chromosomal translocations, oncogenes, and B-cell tumors, *Hosp. Pract.*, **20**(1), 41-48.
- Croce C.M. (1987). Role of chromosome translocations in human neoplasia, *Cell*, **49**, 155-156.
- Croce C.M., Thierfelder W., Erikson J., Nishikura K., Finan J., Lenoir G.M., Nowell P.C. (1984). Transcriptional activation of an unarranged and untranslocated *c-myc* oncogene by translocation of a *Cλ* locus in Burkitt lymphoma cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 6922-6926.
- Cutler R.G. (1979). Evolution of human longevity: A critical overview, *Mech. Aging Dev.*, **9**, 337-354.
- Der C.J., Finkel T., Cooper G.M. (1986). Biological and biochemical properties of human *ras*^H genes mutated at codon 61, *Cell*, **44**, 167-176.
- Doehmer J., Barinaga M., Yale W., Rosenfeld M.G., Verma I.M., Evans R.M. (1982). Introduction of rat growth hormone gene into fibroblasts via a retroviral DNA vector: Expression and regulation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 2268-2272.
- Donner P., Greiser-Wilke I., Moelling K. (1982). Nuclear localization and DNA binding of the transforming gene product of avian myelocytomatosis virus, *Nature*, **296**, 262-266.
- Doolittle R.F., Hunkapiller M.W., Hood L.E., Devare S.G., Robbins K., Aaronson S.A., Antoniades H.N. (1983). Simian sarcoma virus *onc* gene, *v-sis*, is derived from the gene (or genes) encoding a platelet-derived growth factor, *Science*, **221**, 275-277.
- Downward J., and 8 others. (1984). Close similarity of epidermal growth factor receptor and *v-erb-B* oncogene protein sequences, *Nature*, **307**, 521-527.
- Duesberg P.H. (1983). Retroviral transforming genes in normal cells? *Nature*, **304**, 219-225.
- Ebina Y., and 8 others. (1985). The human insulin receptor cDNA: The structural basis for hormone-activated transmembrane signalling, *Cell*, **40**, 747-758.
- Eden S., Isaksson O.G.P., Madsen K., Friberg U. (1983). Specific binding of growth hormone to isolated chondrocytes from rabbit ear and epiphyseal plate, *Endocrinology*, **112**, 1127-1129.
- Einat M., Resnitzky D., Kinsky A. (1985). Close link between reduction of *c-myc* expression by interferon and G₀/G₁ arrest, *Nature*, **313**, 597-600.
- Erikson R.L., Collett M.S., Erikson E.L., Purchio A.F. (1979). Evidence that avian sarcoma virus transforming gene product is a cyclic AMP-independent protein kinase, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 6260-6264.
- Fahrlander P.D., Sümegi J., Yang J.-Q., Weiner F., Marcu K.B., Klein G. (1985). Activation of the *c-myc* oncogene by the immunoglobulin heavy chain gene enhancer [after multiple] switch region-mediated chromosome rearrangements in a murine plasmacytoma, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 3746-3750.
- Finkel T., Cooper G.M. (1984). Detection of a molecular complex between *ras* proteins and a transferrin receptor, *Cell*, **136**, 1115-1121.
- Gonda T.J., Metcalf D. (1984). Expression of *myb*, *myc*, and *fes* proto-oncogenes during the differentiation of a murine myeloid leukemia, *Nature*, **310**, 249-251.
- Goss R.J. (1966). Hypertrophy versus hyperplasia, *Science*, **153**, 1615-1620.
- Goss R.J. (1978). The Philosophy of Growth, Academic, New York.
- Gould S.J. (1966). Allometry and size in ontogeny and phylogeny, *Biol. Rev.*, **41**, 587-640.
- Gould S.J. (1971). Geometric similarity in allometric growth: A contribution to the problem of scaling in the evolution of size, *Am. Natur.*, **105**, 113-136.
- Gould S.J. (1974). The origin and function of "bizarre" structures: Antler size and skull size in the "Irish Elk", *Megaloceros giganteus*, *Evolution*, **28**, 191-220.
- Goustin A.S., and 9 others. (1985). Coexpression of the *sis* and *myc* proto-oncogenes in developing human placenta suggests autocrine control of trophoblast growth, *Cell*, **41**, 301-312.
- Greenberg M.E., Ziff E.B. (1984). Simulation of 3T3 cells induces transcription of *c-fos* proto-oncogene, *Nature*, **311**, 433-438.

- Hanafusa H., Halpern C. C., Bucchagà D. L., Kawai S. (1977). Recovery of avian sarcoma virus from tumors induced by transformation-defective mutants, *J. Exp. Med.*, **146**, 1735-1747.
- Hayflick L. (1979). Progress in cytogerontology, *Mech. Aging Dev.*, **9**, 393-408.
- Hayflick L. (1980). The cell biology of human aging, *Sci. Am.*, **242**(1), 58-65.
- Hayflick L., Moorhead P. S. (1961). The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains, *Exp. Cell Res.*, **25**, 585-621.
- Hayman M. J., Ramsay G. M., Savin K., Kitchener G., Graf T., Beug H. (1983). Identification and characterization of the avian erythroblastosis virus *erb-B* gene product as a membrane glycoprotein, *Cell*, **32**, 579-588.
- Hayward W., Neel B. G., Astrin S. (1981). Activation of a cellular *onc* gene by promoter insertion on ALV-induced lymphoid leukemia, *Nature*, **290**, 475-480.
- Heard J. M., Roussel M. F., Rettenmeier C. W., Sherr C. J. (1987). Multilineage hematopoietic disorders induced by transplantation of bone marrow cells expressing the *v-fms* oncogene, *Cell*, **51**, 663-673.
- Hefton J. M., Darlington G., Casazza B. A., Weksler M. E. (1980). Immunological studies of aging. V. Impaired proliferation of PHA-responsive human lymphocytes in culture, *J. Immunol.*, **125**, 1007-1010.
- Hefton J. M., Weksler M. E. (1981). The study of immune function in aged humans. In: W. H. Adler and A. A. Nordin (eds.), *Immunological Techniques Applied to Aging Research*, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Heine U. I., and 7 others. (1987). Role of transforming growth factor- β in the development of the mouse embryo, *J. Cell Biol.*, **105**, 2861-2876.
- Heldin C.-H., Westermark B. (1984). Growth factors: Mechanism of action and relation to oncogenes, *Cell*, **37**, 9-20.
- Hirst R., Horowitz A., Buck C., Rohrschneider L. (1986). Phosphorylation of the fibronectin receptor complex in cells transformed by oncogenes that encode tyrosine kinase, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 6470-6474.
- Holley R. W., Bohlen P., Fava R., Baldwin J. H., Kleeman G., Armour R. (1980). Purification of kidney epithelial cell growth inhibitors, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**, 5989-5992.
- Holliday R., Kirkwood T. B. L. (1981). Prediction of the somatic mutation and mortality theories of cellular aging as contrary to experimental observations, *J. Theoret. Biol.*, **93**, 627-642.
- Holliday R., Kirkwood T. B. L. (1983). Theories of cell aging: A case of mistaken identity, *J. Theoret. Biol.*, **103**, 329-330.
- Hsu Y.-M., Wang J. L., (1986). Growth control in cultured 3T3 fibroblasts. V. Purification of an M_r 13,000 polypeptide responsible for growth inhibitory activity, *J. Cell Biol.*, **102**, 362-369.
- Hunter T. (1985). Oncogenes and growth control, *Trends Biochem. Sci.*, **10**, 275-280.
- Hunter T. (1986). Cell growth control mechanisms, *Nature*, **322**, 14-16.
- Huxley A. (1939). *After Many a Summer Dies the Swan*, Harper and Brothers, New York.
- Huxley J. S. (1932). *Problems of Relative Growth*, Dial Press, New York.
- Isaksson O. G. P., Jansson J.-O., Gauss I. A. M. (1982). Growth hormone stimulates longitudinal bone growth directly, *Science*, **216**, 1237-1239.
- Johnson P. R., Zucker L. M., Cruce J. A., Hirsch J. (1971). Cellularity of adipose deposits in the genetically obese Zucker rat, *J. Lipid Res.*, **12**, 706-714.
- Kelly J. D., Raines E. W., Ross R., Murray M. J. (1985). The β chain of PDGF is sufficient for mitogenesis, *EMBO J.*, **3**, 3399-3405.
- Kelly K., Cochrane B. H., Stiles C. D., Leder P. (1983). Cell-specific regulation on the *c-myc* gene by lymphocyte mitogens and platelet-derived growth factor, *Cell*, **35**, 603-610.
- Kishimoto S., Tomino S., Mitsuya H., Nishimura H. (1982). Age-related decrease in frequencies of B-cell precursors and specific help on T-cells involved in the 19G anti-tetanus toxoid antibody protection in humans, *Clin. Immunol. Immunopathol.*, **25**, 1-10.
- Klarlund J. D. (1985). Transformation of cells by an inhibitor of phosphatases acting on phosphotyrosine in proteins, *Cell*, **41**, 707-717.
- Kmieciak T. E., Shalloway D. (1986). Activation and suppression of pp60^{src} transforming ability by mutation of its primary sites of tyrosine phosphorylation, *Cell*, **49**, 65-73.
- Kozbor D., Giallongo A., Sierze M. E., Konopka J. B., Witte O. N., Showe L. C., Croce C. M. (1986). Expression of translocated *c-abl* gene in hybrids of mouse fibroblasts and chronic myelogenous leukemia cells, *Nature*, **319**, 331-333.
- Krujter W., Cooper J. A., Hunter T., Verma I. M. (1984). Platelet-derived growth factor induces rapid but transient expression of the *c-fos* gene and protein, *Nature*, **312**, 711-716.
- Krujter W., Schubert D., Verma I. M. (1985). Induction of the proto-oncogene *fos* by nerve growth factor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 7330-7334.
- Krystal G., Morris G. M., Lipman J. M., Sokoloff L. (1983). DNA repair by articular chondrocytes. I. Unscheduled DNA synthesis following ultraviolet irradiation in monolayer culture, *Mech. Aging Dev.*, **21**, 63-96.
- LaBarbera M. (1990). Principles of design of fluid transport systems in zoology, *Science*, **249**, 992-1000.
- Lacal J. C., Srivastava S. K., Anderson P. S., Aaronson S. A. (1986a). Ras p21 proteins with high or low GTPase activity can efficiently transform NIH/3T3 cells, *Cell*, **44**, 609-617.
- Lacal J. C., Anderson P. S., Aaronson S. A. (1986b). Deletion mutants of Harvey ras p21 protein reveal absolute requirement of at least two distant regions for GTP-binding and transforming activities, *EMBO J.*, **5**, 679-687.
- Land H., Parada L. F., Weinberg R. A. (1983). Tumorigenic conversion of primary embryo fibroblasts requires at least two cooperating oncogenes, *Nature*, **304**, 596-602.
- Lau L. F., Nathans D. (1985). Identification of a set of genes expressed during the G₀/G₁ transition of cultured mouse cells, *EMBO J.*, **4**, 3145-3151.
- Lawrence D. A., Pircher R., Kryczek-Martinerie C., Jullien P. (1984). Normal embryo fibroblasts release transforming growth factors in a latent form, *J. Cell. Physiol.*, **121**, 184-188.
- Leder P., and 7 others. (1983). Translocations among antibody genes in human cancer, *Science*, **222**, 765-771.
- Leof E. B., Wharton W., Van Wyk J. J., Pledger W. J. (1982). Epidermal growth factor and somatomedin C regulate G₁ progression in competent BALB/c-3T3 cells, *Exp. Cell Res.*, **141**, 107-115.
- Levinson A. D., Opperman H., Varmus H. E., Bishop J. M. (1980). The purified product of the transforming gene of avian sarcoma virus phosphorylates tyrosine, *J. Biol. Chem.*, **255**, 1973-1980.
- Lim R. W., Hauschka S. D. (1984). A rapid decrease in EGF-binding capacity accompanies the terminal differentiation of mouse myoblasts in vitro, *J. Cell Biol.*, **98**, 739-747.
- Lin S. L., Kikuchi T., Pledger W. J., Tamm I. (1986). Interferon inhibits the establishment of competence in G₀/S-phase transition, *Science*, **233**, 356-359.
- Linial M., Gunderson N., Groudine M. (1985). Enhanced transcription of *c-myc* in bursal lymphoma cells requires continuous protein synthesis, *Science*, **230**, 1126-1132.
- Lumpkin C. K., Jr., McClung J. K., Pereira-Smith O. M., Smith J. R. (1986). Existence of high abundance antiprolifer-

- rative mRNAs in senescent human diploid fibroblasts, *Science*, **232**, 393-395.
- Luna A.M., Wilson D.M., Wibbelsman C.J., Brown R.C., Nagashima R.J., Hintz R.L., Rosenfeld R.D. (1983). Somatomedins in adolescence: A cross-sectional study of the effect of puberty of plasma insulin-like growth factor I and II, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **304**, 545-547.
- Martin C.R. (1985). *Endocrine Physiology*, Oxford University Press, New York.
- Martin G.M., Sprague C.A., Epstein C.J. (1970). Replicative life span of cultured human cells: Effects of donors age, tissue, and genotype, *Lab. Invest.*, **23**, 86-92.
- Martin-Zanca D., Hughes S.H., Barbacid M. (1986). A human oncogene formed by the fusion of truncated tropomyosin and protein tyrosine kinase sequences, *Nature*, **319**, 743-748.
- Marx J.L. (1986). The yin and yang of cell growth control, *Science*, **232**, 1093-1095.
- Matsumura T., Zerrudo Z., Hayflick L. (1979). Senescent human diploid cells in culture: survival, DNA synthesis, and morphology, *J. Gerontol.*, **34**, 328-334.
- McMahon J.B., Farrelly J.G., Iype P.T. (1982). Purification and properties of rat liver proteins that specifically inhibit the proliferation of non-malignant epithelial cells from rat liver, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 456-460.
- Merimee T.J., Zapf J., Hewlett B., Cavalli-Sforza L.L. (1987). Insulin-like growth factors in pygmies. The role of puberty in determining final stature, *N. Engl. J. Med.*, **316**, 906-911.
- Moore K.L. (1983). *Before We Are Born: Basic Embryology and Birth Defects*, 2nd Ed., Saunders, Philadelphia, p. 70.
- Muggleton-Harris A.L., Hayflick L. (1976). Cellular aging studied by the reconstruction of replicating cells from nuclei and cytoplasm isolated from normal human diploid cells, *Exp. Cell Res.*, **103**, 321-330.
- Neckmeyer W.S., Wang L.H. (1985). Nucleotide sequence of avian sarcoma virus UR2 and comparisons of its transforming gene with other members of the tyrosine kinase oncogene family, *J. Virol.*, **53**, 879-884.
- Needham J. (1951). *Biochemical aspects of form and growth*. In: L.L. Whyte (ed.), *Aspects of Form*, Lund Humphries, London, pp. 77-86.
- Nette E.G., Xi Y.-P., San Y.-K., Andrews A.D., King D.W. (1984). A correlation between aging and DNA repair in human epidermal cells, *Mech. Aging Dev.*, **24**, 283-292.
- Nienhaus A.W., Bunn H.F., Turner P.H., Gopal T.V., Nash W.G., O'Brien S.J., Sherr C.J. (1985). Expression of the human *c-fms* proto-oncogene in hematopoietic cells and its deletion in the 5q⁻ syndrome, *Cell*, **42**, 421-428.
- Nilsson A., Isgaard J., Lindahl A., Dahlström A., Skottner A., Isaksson O.G.P. (1986). Regulation by growth hormone of number of chondrocytes containing IGF-I in rat growth plate, *Science*, **233**, 571-574.
- Nishikura K., Rushdim A., Erikson J., Watt R., Rovera G., Croce C.M. (1983). Differential expression of the normal and of the translocated human *c-myc* oncogenes in B-cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 4822-4826.
- Noronha A.B.C., Antel J.P., Roos R.P., Arnason B.G.W. (1980). Changes in concanavalin: A capping of human lymphocytes with age, *Mech. Aging Dev.*, **12**, 331-337.
- Olashaw N.E., Pledger W.J. (1982). Association of platelet-derived growth factor-induced protein with nuclear material, *Nature*, **306**, 272-274.
- Olwin B.B., Hauschka S.D. (1988). Cell surface fibroblast growth factor and epidermal growth factor receptors are permanently lost during skeletal muscle terminal differentiation in culture, *J. Cell Biol.*, **107**, 761-769.
- Orgel L.E. (1973). Aging of clones of mammalian cells, *Nature*, **244**, 441-445.
- Palmiter R.D., Brinster R.L., Hamm R.E., Trumbauer M.E., Rosenfeld M.G., Birnberg N.C., Evan R.M. (1982). Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein growth hormone fusion genes, *Nature*, **300**, 611-615.
- Pardee A.B., Coppock D.L., Yang H.C. (1986). Regulation of cell proliferation and the onset of DNA synthesis, *J. Cell Sci. [Suppl.]*, **4**, 171-180.
- Pereira-Smith O.M., Fisher S.F., Smith J.R. (1985). Senescent and quiescent cell inhibitors of DNA synthesis, *Exp. Cell Res.*, **160**, 297-306.
- Pfeifer-Ohlsson S., Goustin A.S., Rydner J., Wahlström T., Bjersing L., Stehelin D., Ohlsson R. (1984). Spatial and temporal pattern of cellular *myc* oncogene expression in developing human placenta: Implications for embryonic cell proliferation, *Cell*, **38**, 585-596.
- Phillips P.D., Kaji K., Cristofalo V.J. (1984). Progressive loss of the proliferative response of senescing WI-38 cells to PDGF, EGF, insulin, transferrin, and dexamethasone, *J. Gerontol.*, **39**, 11-17.
- Phillips P.D., Kuhne E., Cristofalo V.J. (1983). ¹²⁵I-EGF binding ability is stable throughout replicative life span of WI-38 cells, *J. Cell. Physiol.*, **114**, 311-316.
- Pilbeam D., Gould S.J. (1974). Size and scaling in human evolution, *Science*, **186**, 892-901.
- Piwnicka-Worms H., Saunders K.B., Roberts T.M., Smith A.E., Chang S.H. (1987). Tyrosine phosphorylation regulates the biochemical and biological properties of pp60^{c-src}, *Cell*, **49**, 75-82.
- Pledger W.J., Estes J.B., Howe P.H., Leof E.B. (1984). Serum factor requirements for the initiation of cell proliferation. In: J.P. Mather (ed.), *Mammalian Cell Culture*, Plenum, New York, pp. 1-15.
- Proper J.A., Bjornson C.L., Moses H.L. (1982). Mouse embryos contain polypeptide growth factors capable of inducing a reversible neoplastic phenotype in non-transformed cells culture, *J. Cell. Physiol.*, **110**, 169-174.
- Przibram H. (1904). *Reported in Przibram H. (1931). Connecting Laws in Animal Morphology*, University of London Press, London.
- Raff R.A., Kaufman T.C. (1983). *Embryos, Genes, and Evolution*, Macmillan, New York.
- Ralston R., Bishop J.M. (1985). The product of the proto-oncogene *c-src* is modified during the cellular response to platelet-derived growth factor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 7845-7849.
- Randall J.E. (1964). Contributions to the biology of the queen conch, *Strombos gigas*, *Bull. Mar. Sci.*, **14**, 246-295.
- Raup D.M. (1962). Computer as aid in describing form in gastropod snails, *Science*, **138**, 150-152.
- Raup D.M. (1966). Geometric analysis of shell coiling: General problems, *J. Paleontol.*, **40**, 1178-1190.
- Resnitzky D., Yarden A., Zipori D., Kimchi A. (1986). Autocrine β -related interferon controls *c-myc* suppression and growth arrest during hematopoietic cell differentiation, *Cell*, **46**, 31-40.
- Roberts A.B., Anzano M.A., Lamb L.C., Smith J.M., Sporn M.B. (1981). New class of transforming growth factors potentiated by epidermal growth factor: Isolation from non-neoplastic tissues, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**, 5339-5343.
- Roberts A.B., Anzano M.A., Wakefield L.L., Roche N., Stern D.F., Sporn M.B. (1985). Type β transforming growth factor: A bifunctional regulator of cellular growth, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 119-123.
- Roberts A.B., Frolik C.A., Anzano M.A., Sporn M.B. (1983). Transforming growth factor for neoplastic and non-neoplastic tissues, *Fed. Proc.*, **42**, 2621-2626.
- Ross R., Vogel A. (1978). The platelet-derived growth factor, *Cell*, **14**, 203-210.
- Rous P. (1910). A transmissible avian neoplasm (sarcoma of the common fowl), *J. Exp. Med.*, **12**, 696-705.

Sambucetti L. C., Curran T. (1986). The *fos* protein complex is associated with DNA in isolated nuclei and binds to DNA cellulose, *Science*, **234**, 1417-1419.

Savage C. R., Cohen S. (1972). Epidermal growth factor and a new derivative, *J. Biol. Chem.*, **247**, 7609-7611.

Scharf M., Barnekow A. (1984). Differential expression of the cellular *src* gene during vertebrate development, *Dev. Biol.*, **105**, 415-422.

Scher C. J., Rettenmier C. W., Sacca R., Roussel M. F., Look A. T., Stanley E. R. (1985). The *c-fms* proto-oncogene product is related to the receptor for the mononuclear phagocyte growth factor, CSF-1, *Cell*, **41**, 665-676.

Schneider E. L., Mitsui Y. (1976). The relationship between in vitro cellular aging and in vivo human age, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **3584**-3588.

Schwab M., and 8 others. (1983). Amplified DNA with limited homology to *myc* oncogene is shared by human neuroblastoma cell lines and a neuroblastoma tumour, *Nature*, **305**, 245-248.

Seeger R. C., Brodeur G. M., Sather H., Dalton A., Siegel S. E., Wong K. Y., Hammond D. (1985). Association of multiple copies of the *N-myc* oncogene with rapid progression of neuroblastomas, *N. Engl. J. Med.*, **313**, 1111-1116.

Sefton B. M., Hunter T. J., Ball E. H., Singer S. J. (1981). Vinculin-A cytoskeletal target of the transforming protein of Rous sarcoma virus, *Cell*, **24**, 165-174.

Sefton B. M., Hunter T., Beemon K., Eckhart W. (1980). Evidence that the phosphorylation of tyrosine is essential for cellular transformation by Rous sarcoma virus, *Cell*, **20**, 807-816.

Shih C., Weinberg R. A. (1982). Isolation of a transforming sequence from a human bladder carcinoma cell line, *Cell*, **29**, 161-169.

Sokawa Y., Watanabe Y., Kawade Y. (1977). Interferon suppresses the transfection of quiescent 3T3 cells to a growing state, *Nature*, **268**, 236-238.

Sorge L. K., Levy B. T., Maness P. F. (1984). *pp60^{c-src}* is developmentally regulated in the neural retina, *Cell*, **36**, 249-257.

Stern J. S., Greenwood M. R. C. (1974). A review of development of adipose cellularity in man and animals, *Fed. Proc.*, **33**, 1952-1955.

Stiles C. D., Capone G. T., Scher C. D., Antoniades H. N., Van Wyk J. J., Pledger W. J. (1979). Dual control of cell growth by somatomedins and platelet-derived growth factor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 1279-1283.

Studzinski G. P., Brelvi Z. S., Feldman S. C., Watt R. A. (1986). Participation of *c-myc* protein in DNA synthesis of human cells, *Science*, **234**, 467-470.

Sugimoto Y., Whitman M., Cantley L. C., Erikson R. L. (1984). Evidence that the Rous sarcoma virus transforming gene product phosphorylates phosphatidylinositol and diacylglycerol, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**, 2117-2121.

Tabin C. J., and 8 others. (1982). Mechanism of activation of a human oncogene, *Nature*, **300**, 143-149.

Temin H. M. (1971). The provirus hypothesis, *J. Natl. Cancer Inst.*, **46**, III-VII.

Temin H. M., Rubin H. (1958). Characteristics of an assay for Rous sarcoma cells in culture, *Virology*, **6**, 669-688.

Thompson D. W. (1942). *On Growth and Form*, Cambridge University Press, Cambridge.

Thornley A. L., Lawrence E. B. (1976). The specificity of epidermal chalone action: The results of in vivo experimentation with purified skin extracts, *Dev. Biol.*, **51**, 10-22.

Ulrich A., and 14 others. (1985). Human insulin receptor and its relationship to the tyrosine kinase family of oncogenes, *Nature*, **313**, 756-761.

Vassilopoulou-Sellin R., Phillips L. S. (1982). Extraction of somatomedin activity from rat liver, *Endocrinology*, **110**, 582-589.

Verrier B., Müller D., Bravo R., Müller R. (1986). Wounding a fibroblast monolayer results in the rapid induction of the *c-fos* proto-oncogene, *EMBO J.*, **5**, 913-917.

Ward J. M., Armitage K. B. (1981). Circannual rhythms of food consumption, body mass, and metabolism in yellow-bellied marmosets (*Marmota flaviventris*), *Comp. Biochem. Physiol.*, **69A**, 621-626.

Waterfield M. D., and 9 others. (1983). Platelet-derived growth factor is structurally related to the putative transforming protein P28^{src} of simian sarcoma virus, *Nature*, **304**, 35-39.

Weber W., Bertics P. J., Gill C. N. (1984). Immunoaffinity purification of the epidermal growth factor receptor, *J. Biol. Chem.*, **259**, 14631-14636.

Weksler M. E. (1983). Senescence of the immune system, *Med. Clin. North*, **67**, 263-272.

Wheeler D., Nijhout H. F. (1981). Soldier determination in ants and a new role for juvenile hormones, *Science*, **213**, 361-363.

Williams J. G., Penman S. (1975). Messenger RNA sequences in growing and resting mouse fibroblasts, *Cell*, **6**, 197-206.

Wilson E. O. (1953). The origin and evolution of polymorphism in ants, *O. Rev. Biol.*, **28**, 136-156.

Yamamoto T., and 7 others. (1983). Similarity of protein encoded by the *c-erbB2* gene to epidermal growth factor receptor, *Nature*, **319**, 230-234.

Zarbl H., Sukumar S., Arthur A. V., Martin-Zanka D., Barbaeid M. (1985). Direct mutagenesis of *Ha-ras-1* oncogenes by *N*-nitroso-*N*-methylurea during initiation of mammary carcinogenesis in rats, *Nature*, **315**, 382-385.

Zezulak K. M., Green H. (1986). The generation of insulin-like growth factor-I-sensitive cells by growth hormone action, *Science*, **233**, 551-553.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

К 3-МУ ИЗДАНИЮ

Benedict W. F., Murphree A. L., Banerjee A., Spina C. A., Sparkes M. D., Sparkes R. S. (1983). Patient with 13 chromosome deletion: evidence that the retinoblastoma gene is a recessive cancer gene, *Science*, **219**, 973-975.

Burchkovich K., Duffy L. A., Harlow E. (1989). The retinoblastoma gene is phosphorylated during specific phases of the cell cycle, *Cell*, **58**, 1097-1105.

Cales C., Hancock J. F., Marshall C. J., Hall A. (1988). The cytoplasmic protein GAP is implicated as a target for regulation by the *ras* gene product, *Nature*, **332**, 548-551.

Cavanee W. K., and 8 others. (1983). Expression of recessive alleles by chromosomal mechanisms in retinoblastoma, *Nature*, **305**, 779-784.

Chen P.-L., Scully P., Shen J.-Y., Wang J. Y. J., Lee W.-H. (1989). Phosphorylation of the retinoblastoma gene product is modulated during the cell-cycle and cellular differentiation, *Cell*, **58**, 1193-1198.

Cooper J. A., Whyte P. (1989). RB and cell cycle: Entrance or exit? *Cell*, **58**, 1009-1011.

DeCarpio J. A., and 7 others. (1989). The product of the retinoblastoma susceptibility gene has properties of a cell cycle regulatory element, *Cell*, **58**, 1085-1095.

Draetta G., Pines-Worms H., Morrison D., Druker B., Roberts T., Beach D. (1988). Human *cdc2* protein kinase is a major cell-cycle regulated tyrosine kinase substrate, *Nature*, **336**, 738-744.

Fearon E. R., and 10 others. (1990). Identification of a chromosome 18q gene that is altered in colorectal cancers, *Science*, **247**, 49-56.

Friend S. H., Bernards R., Rogelj S., Weinberg R. A., Rapaport J. M., Albert D. M., Dryja T. P. (1986). A human DNA segment with properties of the gene that predisposes to retinoblastoma and osteosarcoma, *Nature*, **323**, 643-646.

Gibbs J. B., Scaber M. D., Allard W. J., Sigal I. S., Scolnick E. M.

- (1988). Purification of *ras* GTPase activating protein from bovine brain, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 5026–5030.
- Halazonetis T. D., Georgopoulos K., Greenberg M. E., Leder P. (1988). *c-Jun* demerizes with itself and with *c-Fos*, forming complexes with different DNA binding affinities, *Cell*, **55**, 917–924.
- Horowitz J. M. and 8 others (1990). Frequent inactivation of the retinoblastoma anti-oncogene is restricted to a subset of human tumor cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 2775–2779.
- Huang H.-J. S. and 7 others (1988). Suppression of the neoplastic phenotype by replacement of the RB gene in human cancer cells, *Science*, **242**, 1563–1566.
- Kimchi A., Wang X.-E., Weinberg R. A., Cheifetz S., Massague J. (1988). Absence of TGF- β receptors and growth inhibitory responses in retinoblastoma cells, *Science*, **240**, 196–198.
- Knudson A. G. (1971). Mutation and cancer: Statistical study of retinoblastoma, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **68**, 820–823.
- Knudson A. G., Meadows A. G., Nichols W. W., Hill R. (1976). Chromosome deletion and retinoblastoma, *N. Engl. J. Med.*, **295**, 1120–1123.
- Lee E. and 7 others (1987). The retinoblastoma susceptibility gene encodes a nuclear phosphoprotein associated with DNA binding activity, *Nature*, **329**, 642–645.
- Margolis B. and 8 others (1989). EGF induces tyrosine phosphorylation of phospholipase C-II: A potential mechanism for EGF receptor signalling, *Cell*, **57**, 1101–1107.
- McCormick F. (1989). *ras* GTPase activating protein: Signal transmitter and signal terminator, *Cell*, **56**, 5–8.
- Meisenhelder J., Suh P.-G., Rhee S. G., Hunter T. (1989). Phospholipase C- α is a substrate for the PDGF and EGF receptor protein-tyrosine kinase in vivo and in vitro, *Cell*, **57**, 1109–1122.
- Rastinejad F., Polverini P. J., Bouck N. (1989). Regulation of the activity a new inhibitor of angiogenesis by a cancer suppressor gene, *Cell*, **56**, 345–355.
- Rauscher F. J. III, Sambucetti L. C., Curran T., Distel R. J., Spiegelman B. M. (1988). Common DNA binding site for Fos protein complexes and transcription factor AP-1, *Cell*, **52**, 471–480.
- Robbins P. D., Horowitz J. M., Mulligan R. C. (1990). Negative regulation of human *c-fos* expression by the retinoblastoma gene product, *Nature*, **346**, 668–671.
- Seshadri T., Campisi J. (1990). Repression of *c-fos* transcription and an altered genetic program in senescent human fibroblasts, *Science*, **247**, 205–208.
- Trahey M., McCormick F. (1987). A cytoplasmic protein stimulates normal N-*ras* p21 GTPase, but does not affect oncogenic mutants, *Science*, **238**, 542–544.
- Vogelstein B. and others (1989). Genetic alterations accumulate during colorectal tumorigenesis. In: W. Cavanee, N. Hastle and E. Stanbridge (eds.), *Recessive Oncogenes and Tumor Progression*, Cold Spring Harbor Laboratories, Cold Spring Harbor, NY.

Глава 21

Детерминация пола

Половое размножение—...шедевр природы.

ЭРАЗМ ДАРВИН (1791)

Любопытно отметить, что число спекуляций относительно природы пола наверняка удвоилось с тех пор, как Дрелинкур в восемнадцатом веке собрал две сотни и шестьдесят две «беспочвенные гипотезы», а Блюменбах едко заметил, что самой туманной стала собственная теория Дрелинкура—двести шестьдесят третья.

ДЖ. ТОМСОН (1926)

Введение

Проблема, касающаяся механизма детерминации (определения) пола особи, со времен античности остается одной из важнейших нерешенных проблем эмбриологии. Аристотель, собиравший и анатомировавший зародыши, утверждал, что пол определяется теплом мужского партнера при половом сношении. Чем горячее страсть, тем больше вероятность появления мужского потомства. (Аристотель советовал немолодым людям беременеть летом, если они хотят получить наследника мужского пола.) С тех пор детерминацию пола связывали с условиями среды, в частности с теплом и хорошим питанием. В 1890 г. Геддес и Томсон (Geddes, Thomson, 1890) в результате изучения накопившихся к тому времени данных об определении пола пришли к выводу о том, что любой анализ такого рода требует особого внимания к «конституции, возрасту, питанию и условиям жизни родителей». Эти авторы заключили, что факторы, благоприятствующие сохранению энергии и питательных веществ, способствуют появлению женского потомства, а факторы, благоприятствующие утилизации энергии и пищи, положительно влияют на появление мужского потомства.

Представления об определяющей роли среды в детерминации пола оставались основой научной теории, пока в 1900 г. не были вновь открыты законы Менделя, а в 1902 г. Мак-Клангом (McClung, 1902) не была вторично открыта половая

хромосома. Основываясь на изучении работ Менделя, Корренс (Correns) предположил, что характерное для большинства видов соотношение полов, равное 1:1, может быть обусловлено гетерозиготностью самцов и гомозиготностью самок. Однако лишь в 1905 г. было установлено (у насекомых), что женский пол коррелирует с наличием хромосом XX, а мужской—XY или XO (Stevens, 1905; Wilson, 1905). Это явилось сильнейшим аргументом в пользу того, что развитие полового фенотипа направляется специфическим ядерным компонентом. Таким образом, накапливались данные о том, что пол определяется каким-то ядерным наследственным фактором, а не условиями среды.

Сегодня мы знаем, что у разных видов пол могут детерминировать как факторы внешней среды, так и внутренний механизм. В этой главе нам прежде всего предстоит рассмотреть хромосомные механизмы определения пола, а затем пути, при помощи которых среда может регулировать половой фенотип.

Хромосомная детерминация пола у млекопитающих

Детерминация пола у млекопитающих является строго хромосомной и обычно не зависит от окружающих условий. В большинстве случаев в

генотипе самок содержатся две X-хромосомы, а в генотипе самцов – XY. Y-хромосома служит решающим наследственным фактором, который определяет пол у млекопитающих. Даже в том случае, когда особь имеет пять X-хромосом и одну Y-хромосому, она будет мужской. Если же особь имеет одну-единственную X-хромосому без Y-хромосомы, то она будет женской.

Когда Джост (Jost, 1953) удалял еще недифференцированные гонады у плода кролика, то независимо от генотипа (XX или XY) развившаяся особь всегда оказывалась женской. Все подопытные кролики имели яйцеводы, матки, влагалища и были лишены мужских половых органов. В отсутствие гонад развитие идет по женскому пути. Следовательно, определение пола у млекопитающих зависит от какого-то продукта Y-хромосомы или ею регулируется.

Схема детерминации пола у млекопитающих представлена на рис. 21.1. Если Y-хромосома отсутствует, то зачатки гонад развиваются в яичники. Эстрогены, продуцируемые яичником, обуславливают развитие мюллера протока во влагалище, шейку матки, матку и яйцеводы. При наличии Y-хромосомы последняя продуцирует или регулирует

образование фактора (до сих пор еще не охарактеризованного), который детерминирует развитие семенников, т.е. вынуждает развивающуюся гонаду вступать на путь, ведущий к развитию семенника, а не яичника. Коль скоро семенник сформировался, он начинает секретировать два важных гормона. Первый из них – гормон, направленный против мюллера канала, или **антимюллеровский гормон (АМГ)** разрушает ткань, способную в альтернативном случае дать начало матке, яйцеводу, шейке матки и верхней части влагалища. Другой гормон – **тестостерон** – приводит к маскулинизации плода, вызывая формирование пениса, мошонки и других частей мужской анатомии, одновременно стимулируя редукцию зачатков молочных желез. Итак, фенотип организма останется женским, если его не изменят два гормона, вырабатываемые семенниками плода. Перейдем к более подробному анализу этих событий.

Развитие гонад

Развитие гонад представляет собой уникальное эмбриологическое явление. Все прочие зачатки

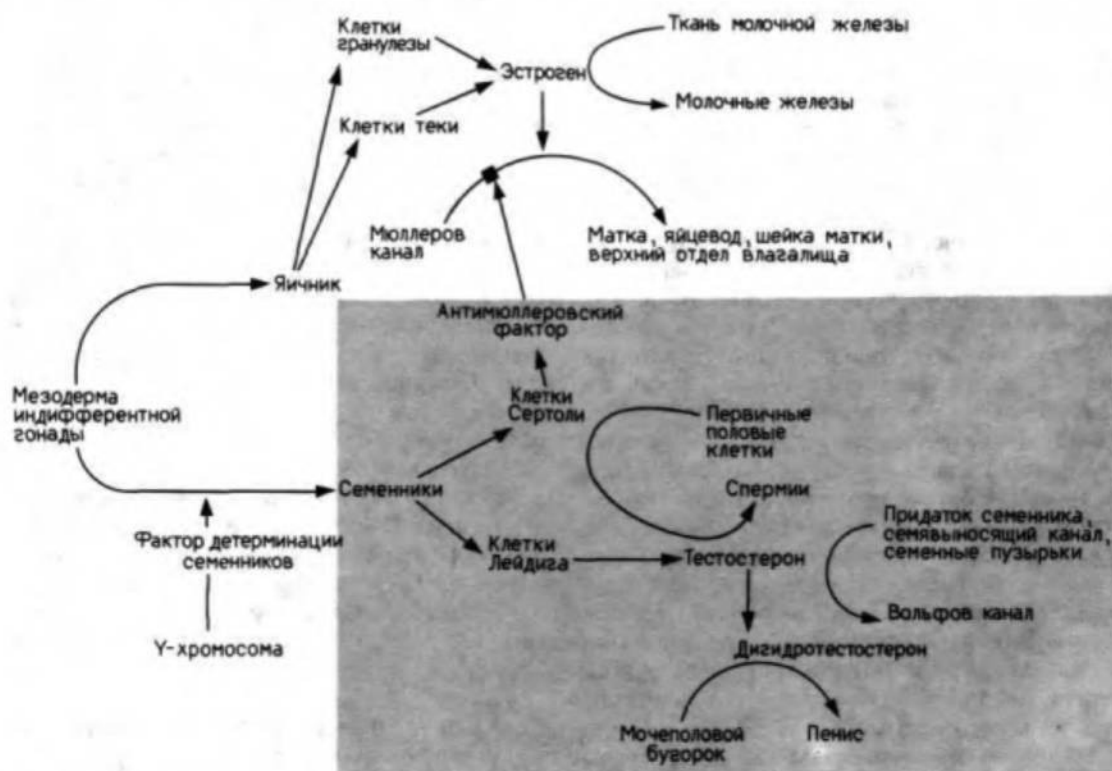


Рис. 21.1. Последовательность событий, ведущих к формированию фенотипов у млекопитающих. При наличии Y-хромосомы индифферентная гонада превращается в семенник. Клетки семенника секретируют гормоны, обуславливающие мужской фенотип. В отсутствие Y-хромосомы действие овариальных генов приводит к развитию яичника, и животное приобретает женский фенотип.

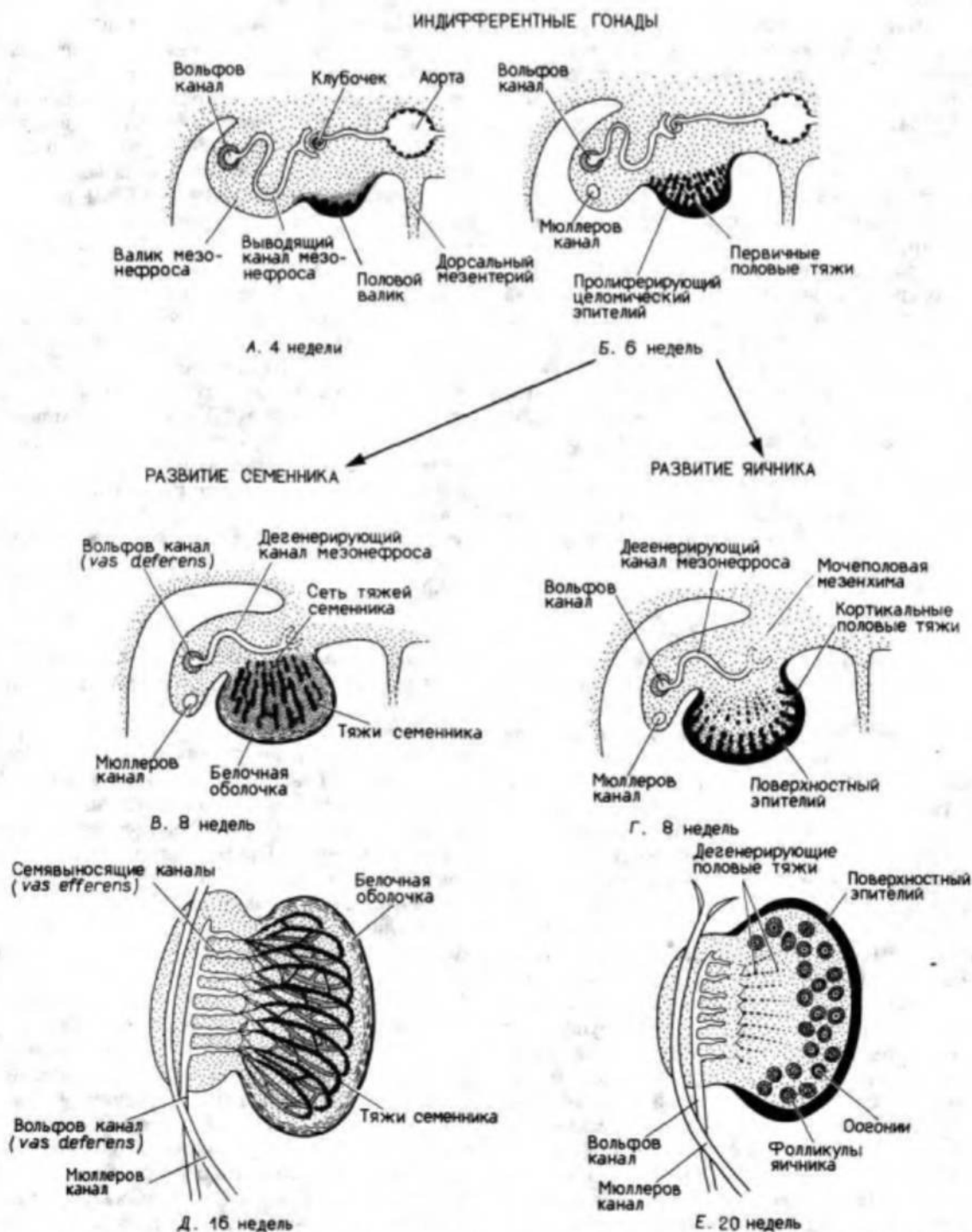


Рис. 21.2. Дифференцировка гонад человека (процесс иллюстрирован на поперечных срезах). А. Половой валик 4-недельного эмбриона. Б. Половой валик 6-недельного эмбриона; появляются первичные половые тяжи. В. Развитие семенника на 8-й неделе. Половые тяжи теряют связь с кортикальным эпителием и формируют сеть семенника. Г. Развитие яичника у 8-недельного женского эмбриона человека; первичные половые тяжи дегенерируют. Д. 16-я неделя развития; половые тяжи семенника продолжают в сеть семенника и соединяются с вольфовым каналом. Е. 20-недельный яичник человека не связан с вольфовым каналом; новые кортикальные половые тяжи окружают первичные половые клетки, мигрировавшие в половой валик. (По Langman, 1981.)

органов в ходе нормального развития дифференцируются в орган лишь одного типа. Например, зачаток легкого может дать начало только легкому, а зачаток печени — только печени. Что же касается зачатка гонады, то он в норме обладает способностью развиваться в двух направлениях: в результате дифференцировки он может превратиться либо в семенник, либо в яичник. Тип дифференцировки, избранный зачатком, детерминирует будущее половое развитие организма. Прежде чем этот выбор будет сделан, гонада млекопитающих некоторое время находится в **индифферентной стадии**, когда у нее не выражены ни женские, ни мужские признаки. У человека зачаток гонады появляется в промежуточной мезодерме на четвертой неделе развития и сохраняет половую неопределенность до седьмой недели. В течение этой индифферентной стадии эпителий полового валика пролиферирует в лежащую над ним рыхлую соединительную мезенхимную ткань (рис. 21.2, А, Б). Эти эпителиальные слои формируют **первичные половые тяжи**, которые будут окружать первичные половые клетки, мигрирующие в гонады на шестой неделе. И в XX-, и в XY-гонадах половые тяжи остаются связанными с поверхностным эпителием.

Если генотип плода — XY, то первичные половые тяжи продолжают пролиферировать в течение восьмой недели, глубоко внедряясь в соединительную ткань. Эти тяжи сливаются, образуя сеть внутренних (медуллярных) половых тяжей, а на дистальном конце формируется более тонкая **сеть семенника** (рис. 21.2, В, Д). Со временем тяжи семенника утрачивают связь с поверхностным эпителием и отделяются от него толстым внеклеточным матриксом — белочной оболочкой (*tunica albuginea*). Таким образом, половые клетки оказываются в тяжах **внутри** семенника. В течение плодной жизни и в детстве эти тяжи остаются плотными. Однако во время полового созревания в них появляется полость и они превращаются в семенные каналы, а первичные половые клетки приступают к сперматогенезу. Спермии транспортируются из семенника через сеть семенника в **семявыносящие каналы**, которые, являясь остатками мезонефрической почки, связывают семенники с вольфовым каналом. Последний служит собирающим каналом мезонефроса. У самцов вольфов канал дифференцируется в **vas deferens** — проток, через который сперма проходит в уретру и выводится наружу. Тем временем в процессе развития плода интерстициальные мезенхимные клетки семенника дифференцируются в **клетки Лейдига**, продуцирующие тестостерон. Клетки тяжей семенника дифференцируются в **клетки Сертоли**, питающие сперматогенные клетки и секретирующие **антимюллеровский гормон**.

У самок половые клетки располагаются на на-

ружной поверхности гонады. В отличие от мужских половых тяжей, сохраняющих пролиферативную активность, первичные половые тяжи XX-гонад дегенерируют. Однако эпителий вскоре продуцирует новый набор половых тяжей, которые в мезенхиму не проникают, а остаются на наружной поверхности (кортексе) органа. Поэтому они называются **кортикальными половыми тяжами**. Эти тяжи распадаются на кластеры, причем каждый кластер окружает одну или несколько первичных половых клеток (рис. 21.2, Г, Е). Первичная половая клетка становится **яйцом**, а окружающие ее эпителиальные половые тяжи дифференцируются в **клетки гранулезы**. Мезенхимные клетки яичника дифференцируются в **клетки теки**. Вместе клетки теки и клубочка образуют **фолликулы**, которые одевают половые клетки и секретируют стероидные гормоны. Каждый фолликул содержит единственную половую клетку. У самок мюллеров канал сохраняется и дифференцируется в яйцеводы, матку, шейку матки и верхнюю часть влагалища; вольфов канал в отсутствие тестостерона дегенерирует. Основные этапы развития репродуктивной системы млекопитающих представлены на рис. 21.3.

Контроль детерминации пола у млекопитающих: гены Y-хромосомы

Обнаружено несколько генов, функционирование которых необходимо для нормальной дифференцировки пола. Генетическое изучение *Drosophila* и *Caenorhabditis* позволило идентифицировать многочисленные гены, участвующие в формировании половых фенотипов. Применение генетических методов при изучении млекопитающих сопряжено с большими трудностями, однако в клинических исследованиях также было идентифицировано несколько генов, активирующихся в процессе детерминации мужского или женского пола. Своими знаниями (хотя и весьма скудными) о генах, детерминирующих пол у млекопитающих, мы обязаны двум обстоятельствам. Во-первых, если мутации в большинстве органов оказываются летальными, то мутации в репродуктивных органах обычно приводят к инверсии пола или стерильности. Во-вторых, известен и детерминирующий фактор. У плодовой мухи и нематоды — это соотношение X-хромосом и аутосом. У мышей и человека — определенный участок Y-хромосомы. Для большей части эмбриологических процессов иницирующие элементы пока неизвестны.

Хотя известно, что Y-хромосома является основным детерминантом при определении пола у млекопитающих, многие весьма важные вопросы остаются пока без ответов. Какая часть Y-хромосомы

А. ДО ПОЛОВОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

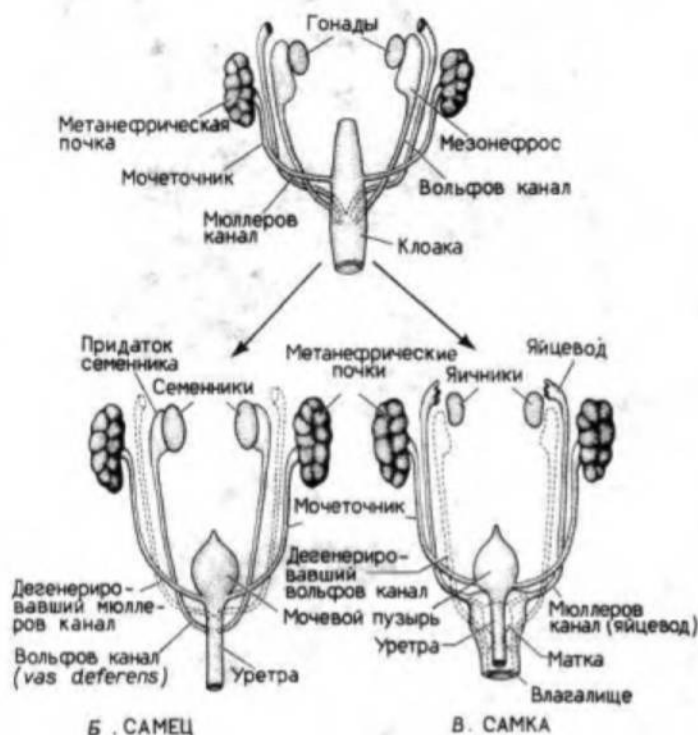


Рис. 21.3. Суммарная схема развития гонад и их протоков у млекопитающих. Обратите внимание на то, что в недифференцированной гонаде присутствуют оба канала — мюллеров и вольфов.

ГОНАДЫ

Тип гонады	Семенник	Яичник
Половые тяжи	Медуллярный (внутренний)	Кортикальный (наружный)

ПРОТОКИ

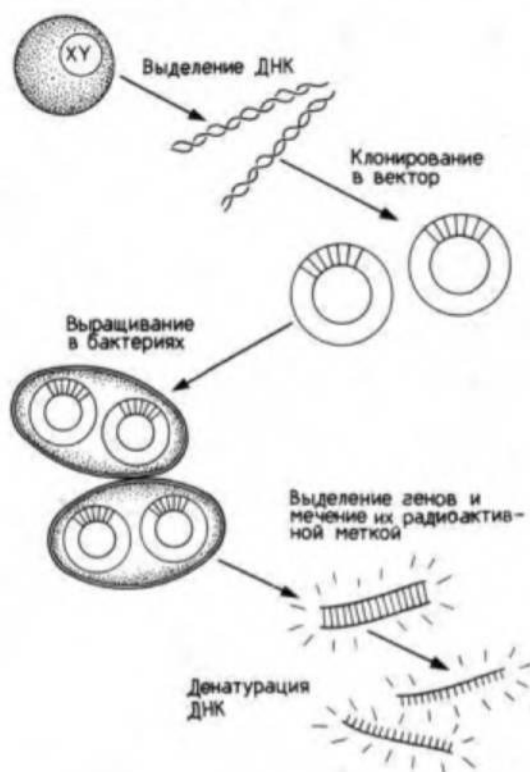
Остается для выведения половых клеток	Вольфов	Мюллеров
Дифференцировка	Vas deferens, придаток семенника, семенной пузырек	Яйцевод, матка, шейка матки, верхняя часть влагалища

необходима для детерминации семенников? Достаточно ли одного этого гена или в детерминации гонад участвуют и другие гены? Каким образом происходит переключение с детерминации яичника на детерминацию семенника?

Прежде всего следует отметить, что в детерминации пола участвует лишь небольшая часть Y-хромосомы. Принято считать, что у человека ген, ответственный за фактор детерминации семенника (*Tdf*), находится в коротком плече Y-хромосомы. Особи, рожденные с Y-хромосомой, представленной только коротким плечом, — мужского пола, тогда как особи, рожденные с Y-хромосомой, состоящей только из длинного плеча, — женского пола. Сочета-

ние клинических исследований с методами гибридизации ДНК позволило идентифицировать область короткого плеча, содержащую ген *Tdf*. Специфическую для Y-хромосомы ДНК можно выделить из библиотек рекомбинантной ДНК, полученной из мужских клеток, путем скрининга ДНК, приготовленной из клеток XX и XY. При этом Y-специфические последовательности свяжутся только с ДНК, выделенной из клеток XY (рис. 21.4). Путем скрининга таких Y-специфических последовательностей на ДНК индивидуумов с недостающими частями Y-хромосомы можно определить, какая часть Y-хромосомы несет данную последовательность (Page, 1985).

Приготовление радиоактивного зонда из клонированной ДНК мужского генотипа XY



Перенос XX- и XY-ДНК по Саузеру

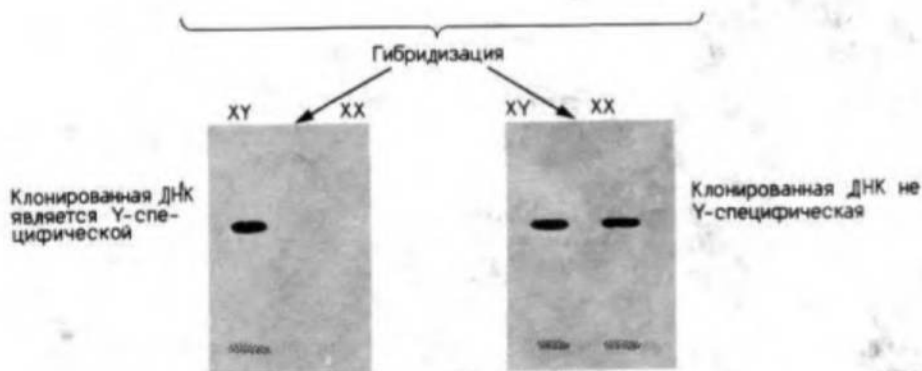
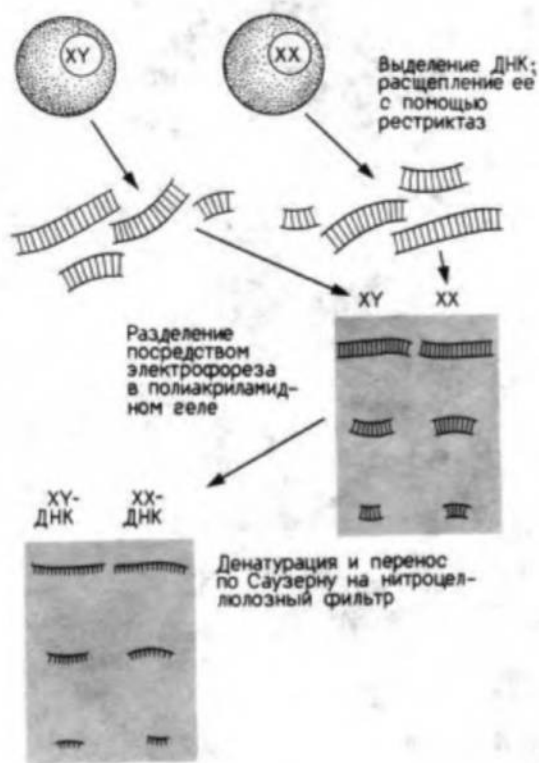


Рис. 21.4. Протокол скрининга клон Y-специфической ДНК. ДНК из мужских клеток клонировали в вирусах и выращивали на *E. coli*. Каждый клон культивировали отдельно; ДНК человека выделяли и метили радиоизотопом. Каждый фрагмент ДНК разделяли на отдельные нити и гибридизовали с ДНК мужских и женских клеток, разделенную путем электрофореза и перенесенную на фильтры по Саузеру. Фрагменты Y-специфической ДНК избирательно связываются с ДНК клеток XY, но не с XX.

В человеческой популяции имеются и мужчины XX (примерно один из 20 000 мужчин) и женщины XY. Результаты экспериментов по гибридизации ДНК (Page et al., 1985; Vergnaud et al., 1986) показали, что у мужчин XX Y-специфическая ДНК из области 1 Y-хромосомы транслоцирована в одну

из их хромосом. Более того, у всех исследованных женщин XY этот участок Y-хромосомы отсутствовал (рис. 21.5). Поэтому представляется весьма вероятным, что ген фактора, детерминирующего семенники, может быть картирован в области 1 Y-хромосомы вблизи конца ее короткого плеча.

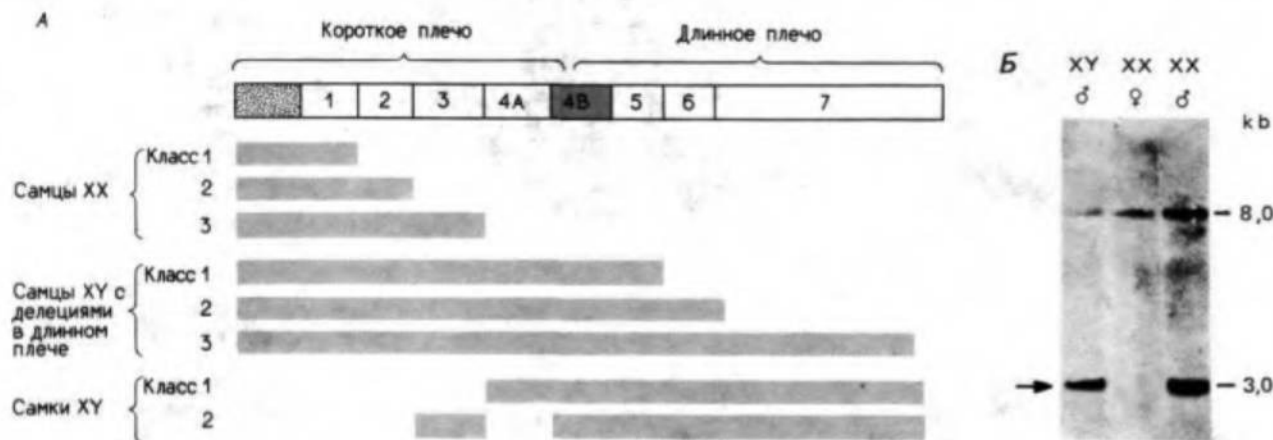


Рис. 21.5. Делеционное картирование гена фактора(ов), детерминирующего развитие семенников у человека. А. Y-хромосома разделена на 9 областей. Область 4В представляет собой кинетохор; область, покрытая точками, — это «псевдоаутосомный» участок, содержащий последовательности ДНК, общие с X-хромосомой (и обуславливающие ее спаривание с X-хромосомой в мейозе). Все самцы XX имеют ДНК из области 1, тогда как у самок XY происходит делеция этого материала из их Y-хромосом. Поскольку эти области часто слишком малы и их невозможно увидеть в микроскоп, об их наличии или отсутствии судят по результатам гибридизации ДНК (в соответствии с протоколом, приведенным на рис. 4), которые представлены на рис. Б, где дан фрагмент радиоактивной ДНК размером 3,0 kb из области 1 Y-хромосомы. Полагают, что именно эта Y-специфическая ДНК содержит фактор, детерминирующий семенники, так как радиоавтограмма после гибридизации по Саузерну свидетельствует о ее присутствии у самцов XX и XY и отсутствии у самок XX. (А — по Page, 1985; Б — из Vergnaud et al., 1986; фотография с любезного разрешения D. Page.)

Получены данные о том, что эта область ДНК человека гибридизуется с областью мышиной Y-хромосомы, транслоцированной у мутантов *sex reversed* (*sxr*) с Y-хромосомы на X-хромосому (Singh, Jones, 1982; Eicher et al., 1983).

Анализ ДНК мужчин XX и женщин XY позволил еще более сузить область локализации детерминирующего семенники гена в Y-хромосоме до 35000 пар оснований у псевдоаутосомного конца. Синклер и др. (Synclaire et al., 1990) обнаружили в этой области последовательность, специфическую для мужчин, которая может кодировать пептид из 223 аминокислот. Эта ДНК обнаружена у мужчин XY, очень редко встречается у мужчин XX и ее нет у женщин XX и XY. Если этот ген (он назван *SRY* от "sex-determining region Y") и в самом деле кодирует основной фактор детерминации семенников, то следует ожидать, что он будет активен в половом гребне непосредственно накануне или во время дифференцировки семенников. В соответствии с этим ожиданием и было обнаружено, что он экспрессируется только в это время и только в этом месте (Gubbay et al., 1990; Koopman et al., 1990). Кроме того, у некоторых женщин XY именно в этом гене наблюдали точковые мутации или мутации со сдвигом рамки считывания (Berta et al., 1990; Jäger et al., 1990).

Ген *SRY* (*SRY* — у человека, *Sry* — у мыши) в настоящее время служит лучшим кандидатом на роль гена детерминации семенников на Y-хромосо-

ме у млекопитающих. Однако окончательное подтверждение того, что именно он является главным фактором детерминации семенника, можно было бы получить в результате инсерции ДНК *Sry* в геном яйца нормальной мыши XX. Превращение такой трансгенной мыши XX в самца указало бы на исключительную роль гена *Sry* в определении пола гонады.

Контроль детерминации пола у млекопитающих: аутосомные гены

Ген (или несколько генов?) Y-хромосомы, детерминирующий семенник, необходим, но не он один определяет развитие семенников у млекопитающих. До сих пор неизвестно, каким образом осуществляет свои функции ген детерминации семенников, располагающийся на Y-хромосоме, однако последние данные свидетельствуют о том, что его функции должны быть координированы с функциями некоторых аутосомных генов. Эйхер и Уошберн (Eicher, Washburn, 1983, 1986) обнаружили, что при введении Y-хромосомы *Mus domesticus* в инбредную линию *Mus musculus* путем скрещивания у особей с генотипом XY развивается ткань яичников (рис. 21.6). У половины этих мышей пол оказался инвертированным (их гонады были представлены только тканью яичника), у другой половины в гонадах содержалась как ткань яичников, так и ткань семенников (Eicher, Washburn, 1983,

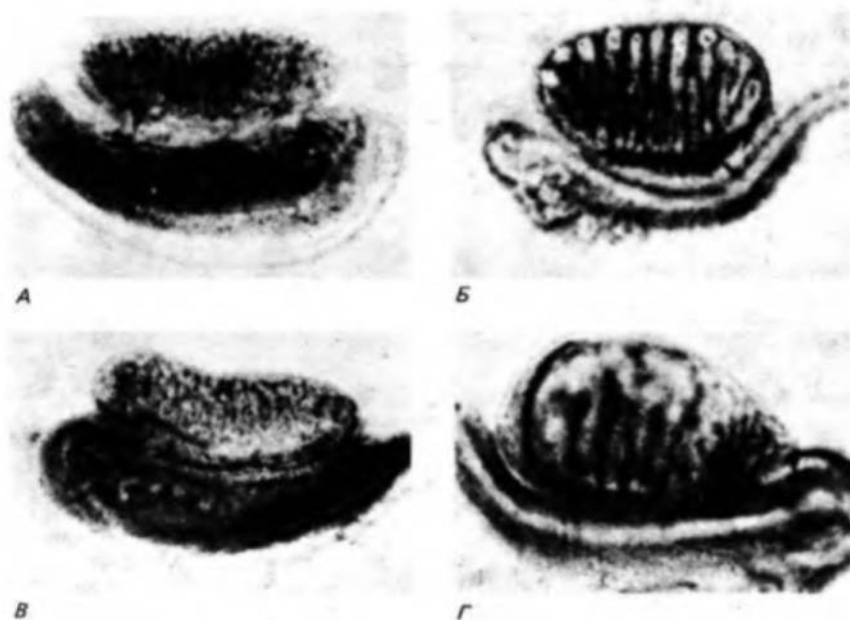


Рис. 21.6. Овариальная ткань в гонадах XY в случае, когда в геноме *Mus musculus* линии C57 содержатся Y-хромосомы *Mus domesticus*. Гонады и прилежащие мезонефросы отпрепарированы у плодов в возрасте 14,5–16 сут. А. Нормальный яичник плода XX. Б. Семенники нормального мужского плода линии C57. В. Яичник самки XY. Г. «Яичникосеменник» плода XY, состоящий из овариальной и тестикулярной тканей. (Из Eicher et al., 1982; фотография с любезного разрешения Е. Eicher, L. Washburn.)

1986). Детерминирующий семенники ген Y-хромосомы (*Tdy*) каждой линии мышей может кооперироваться со своим собственным аутосомным геном, участвующим в детерминации семенников (*Tda-1*), и ни с каким другим.

Другой аутосомный ген, детерминирующий пол, — это ген *T-associated sex reversal* (*Tas*). Этот ген сегрегирует вместе с генным комплексом *T/t* на хромосоме 17 *Mus musculus*; различные аллели этого гена обнаружены в разных инбредных линиях мышей (Washburn, Eicher, 1983). В линиях C57 и AKR *M. musculus* развивается около 50% самок. Однако у мышей C57 Y-хромосома утрачивает способность направлять морфогенез семенников, если к ним попадет хромосома 17 из линии AKR. В таких случаях нормальная детерминация семенников нарушается, и каждая гонада представляет собой смесь из овариальной и тестикулярной тканей.

Мак-Ларен (McLaren, 1988) предположила, что один из генов, регулируемых фактором детерминации семенника, — ген антимюллеровского гормона (АМГ). Этот гормон, выделяемый клетками Сертоли, представляет собой один из первых продуктов тестикулярной ткани. Помимо хорошо известной способности вызывать дегенерацию ткани мюллерова протока (что будет обсуждаться подробнее в этой же главе), данный гормон заставляет культивируемые клетки яичника XX дифференцироваться в тестикулярную ткань (Vigier et al., 1987). Полагают, что АМГ обуславливает появление фримартинов. Фримартини — стерильные телята XX, чьи гонады частично или полностью маскулинизированы.

Такая особь оказывается одним из членов пары близнецов, причем другой член пары содержит хромосомы XY. Поскольку общее плацентарное кровообращение объединяет этих близнецов, долгое время думали (Lillie, 1917; Wachtel et al., 1980), что какой-то гормон мужского плода вызывает мускулинизацию гонад самки. Поскольку под действием АМГ овариальные клетки крысы организуются в структуры, напоминающие семенные каналцы, этот гормон может быть причиной и появления фримартинов, и нормального морфогенеза семенников.

Модель первичной детерминации пола у млекопитающих

К настоящему времени мы не располагаем беспспорной моделью, с помощью которой можно было бы объяснить детерминацию пола у млекопитающих. На рис. 21.7 показана одна из моделей, объединяющая представления нескольких авторов (Eicher, Washburn, 1986; Burgoyne, 1989).

В основе этой модели лежит допущение, что недифференцированные гонады плода бипотенциальны и что развитие в *обоих* направлениях — мужском и женском — является активным, управляемым генами процессом (т.е. женское развитие не может рассматриваться просто как результат пассивного «невыполнения условий»). Таким образом, существуют два параллельных пути развития: один, ведущий к развитию яичников, другой — к развитию семенников. Кроме того, эта модель предполагает индукционные взаимодействия между линией поло-



Рис. 21.7. Модель генетической регуляции пола у млекопитающих. Ген *Tdy* (если он имеется) инициирует развитие семенников и не дает возможности развиваться яичникам. В отсутствие гена *Tdy* ген *Od* инициирует развитие яичника на более поздних стадиях. Унаследованная с аутосомой инверсия пола у мышей может быть следствием временных различий в функционировании генов тестикулярного пути. (Из Eicher, Washburn, 1986; Burgoyne, 1989.)

вых клеток и соматической тканью гонады, которую они заселяют. Первое свидетельство этого взаимодействия выражается в том, что первичные половые клетки дают тип гамет, совпадающий с типом гонады, в которую они мигрируют. Например, половые клетки XX, попавшие в семенник, начинают сперматогенез. Реципрокные взаимодействия выражаются в том, что ген *ZFY* (активность которого отмечена при формировании спермиев) в Y-хромосоме эпителия гонады XY не транскрибируется до тех пор, пока гонада не будет индуцирована первичными половыми клетками, заселяющими ее (Koorman et al., 1989).

Первый ген на пути развития яичников — гипотетический ген *Od* (*ovarian-determining*) — расположен на X-хромосоме или на аутосоме. Полагают, что его функция заключается в активации другого гена на пути развития яичников — *Od-1*. (Поисками этих генов никто не занимался, поскольку допущения об их существовании не требовалось в других моделях детерминации пола.) Полагают также, что этот ген активен в первичных половых клетках и вызывает развитие гонады по овариальному пути.

Первый ген на пути развития семенников называется *Testis determining-Y (Tdy)*, т. е. детерминирующий семенники; он эквивалентен человеческому гену *TDF*. Этот ген начинает функционировать в развитии раньше, чем ген *Od* и выполняет две функции: 1) активирует другой ген на пути развития семенников (*Td-1*) и 2) подавляет активацию *Od*. Таким образом, в присутствии гена *Tdy* (что имеет место у индивидуумов XY) формируются семен-

ники, а яичники развиваются в том случае, когда его нет. По-видимому, *Tda-1* и *Taz* представляют собой два гена из тех, которые функционируют на пути детерминации семенников. В соответствии с этой моделью полагают, что явление инверсии унаследованного пола, связанное с этими локусами, объясняется отсутствием координации между *Tdy* и этими аллелями. Такое отсутствие координации может касаться времени экспрессии генов. Аллель *Tdy* линии C57 может активироваться раньше, чем аллель *Tdy Mus domesticus*. Не исключено, что он не в состоянии полностью ингибировать ген *Od* и поэтому овариальная ткань не образуется. Несмотря на значительные успехи, которые были достигнуты в последние годы, анализ первичной детерминации пола у млекопитающих остается (как и в очень далекие времена) одной из самых больших нерешенных проблем биологии развития.

Вторичная детерминация пола

Гормональная регуляция полового фенотипа

Первичная детерминация пола включает формирование либо семенников, либо яичников из недифференцированной ткани гонады. Однако это еще не приводит к развитию полового фенотипа. Вторичная детерминация пола — это развитие женского или мужского фенотипов, обусловленное гормонами, которые вырабатывают яичники или семенники. И женская, и мужская детерминация пола включает два главных временных компонента. Первый из

этих компонентов реализуется в период органогенеза, второй (как описано в гл. 19) – в юношеский период.

Как говорилось ранее, в отсутствие гонад возникает женский фенотип. Происходит развитие мюллеровых каналов и редукция вольфова. Это можно наблюдать у людей, родившихся без функциональных гонад. У индивидуумов, клетки которых имеют только одну X-хромосому (и не имеют Y-хромосомы), сначала происходит закладка яичников, но они атрофируются перед рождением. Под действием эстрогена, поступающего от матери и из плаценты, эти дети рождаются с женскими половыми протоками (Langman, Wilson, 1982)¹.

Формирование мужского фенотипа связано с секрецией тестикулярных гормонов, обуславливающих развитие вольфова канала и атрофию мюллера. Первый из этих гормонов – антимюллеровский гормон (АМГ). Этот белковый по своей природе гормон, секретируемый клетками Сертоли, вызывает дегенерацию мюллера канала. Вторым гормоном представляет собой стероид тестостерон, вырабатываемый клетками Лейдига. Этот гормон обуславливает дифференцировку вольфова канала в придаток семенника, семявыносящий канал и семенные пузырьки; из мочевого бугорка под воздействием тестостерона развивается мошонка и половой член. Существование этих двух независимых систем маскулинизации демонстрируется на примере людей с синдромом нечувствительности к андрогенам. Эти XY-индивидуумы обладают геном фактора детерминации семенников, а следовательно, и семенниками, продуцирующими тестостерон и АМГ. Однако такие люди лишены цитоплазматического белка, связывающего тестостерон, и поэтому не могут реагировать на тестостерон, вырабатываемый их семенниками (Meuer et al., 1975). В то же время они реагируют на эстроген надпочечников, отчего приобретают четко выраженные женские признаки (рис. 21.8). При этом у таких людей имеются семенники, которые, не реагируя на тестостерон, реагируют на АМГ. В результате их мюллеров канал дегенерирует. Эти люди развиваются в нормальных, но стерильных женщин без матки и яйцеводов.

¹ Механизм, лежащий в основе дифференцировки мюллера канала под действием эстрогена, не совсем понятен. Во время эмбриогенеза канал исключительно чувствителен к эстрогенным соединениям, о чем свидетельствуют тератогенные эффекты диэтилstilбэстрола (ДЭС). Этот синтетический эстроген в сороковые – шестидесятые годы прописывали женщинам для сохранения беременности. У дочерей, рожденных этими женщинами, с высокой частотой наблюдались аномалии мюллера канала, которые выражались в нарушениях развития эпителиа влагалища и шейки матки, строения яйцеводов и матки и в более частых по сравнению с нормой случаях рака влагалища (Robbey, 1982; Bell, 1986).



Рис. 21.8. Синдром нечувствительности к андрогенам. Несмотря на кариотип XY и присутствие семенников, у человека развиваются вторичные женские половые признаки. Однако в данном случае отсутствуют производные мюллера канала. (Фотография с любезного разрешения С. В. Hammond.)

Итак, существуют два различных маскулинизирующих гормона – тестостерон и АМГ. Есть, однако, данные о том, что в некоторых тканях активным гормоном служит не тестостерон. В 1974 г. Сиитери и Уилсон (Siiteri, Wilson, 1974) обнаружили, что в мочеполовом синусе и бугорке тестостерон превращается в 5 α -дигидротестостерон, но в ткани вольфова канала этого не происходит. В том же 1974 г. в Доминиканской Республике была обнаружена небольшая община, обитатели которой в нескольких случаях оказались носителями генетической недостаточности по 5 α -кетостеролредуктазе – ферменту, превращающему тестостерон в дигидротестостерон (Imperato-McGinley, 1974). Помимо функционирующих семенников у этих XY-индивидуумов имелся также замкнутый влагалищный карман и увеличенный клитор. Для них была характерна девическая внешность, и их воспитывали соответствующим образом. Однако по своему внутреннему строению их следовало бы отнести к мужскому полу: у них развивался вольфов канал и дегенерировал мюллеров. Таким образом, представляется вероятным, что формирование наружных половых органов находится под контролем дигидротестостерона, тогда как дифференцировка вольфова канала контролируется собственно тестостероном (рис. 21.9). Любопытно, что маскулинизация наружных половых органов становится чувствительной к тестосте-

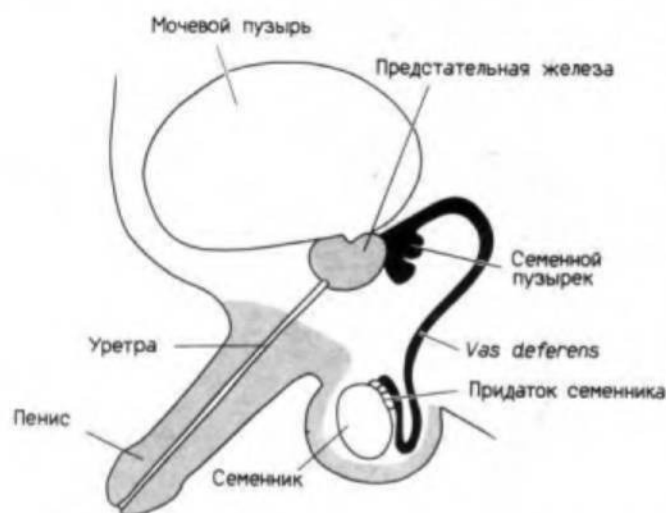


Рис. 21.9. Отделы половой системы мужского плода человека, развитие которых зависит от тестостерона (черный цвет) и дигидротестостерона (серый цвет). (По Imperato-McGinley et al., 1974.)



А



Б

Рис. 21.10. Активность антимюллеровского фактора в переднем отделе репродуктивного тракта 14,5-суточного плода крысы через трое суток культивирования. А. И миоллеров канал (стрелка влево), и вольфов (стрелка вправо) открыты. Б. Вольфов канал (указан стрелкой) открыт, а миоллеров дегенерировал и закрылся. (Фотографии с любезного разрешения N. Jossio.)

рону при половом созревании, что приводит к появлению явных мужских признаков у лиц, первоначально принимаемых за девочек.

Антимюллеровский гормон представляет собой гликопротеин, состоящий из 560 аминокислот (Cate et al., 1986) и вырабатываемый клетками Сертоли (Tran et al., 1977). Если фрагменты семенников плода или изолированные клетки Сертоли поместить вместе с культивируемыми кусочками ткани, содержащей части миоллерова и вольфова каналов, то миоллеров канал атрофируется, тогда как в вольфовом канале не произойдет никаких изменений (рис. 21.10). Чувствительность миоллерова канала к этому гормону сохраняется в течение короткого периода времени (рис. 21.11), и семенники прекра-

щают секрецию этого фактора незадолго перед рождением¹.

Итак, мы видим, что как только сформируются семенники, они начинают вырабатывать два гормона, вызывающих маскулинизацию плода. Один из этих гормонов — тестостерон — может превращаться в более активную форму тканью, из которой разви-

¹ АМГ является потенциальным противоопухолевым средством. Донахью и ее коллеги (Fuller et al., 1984; Cate et al., 1986) показали, что АМГ способствует разрушению половых путей у самок мышей и у женщин. Осуществление клинических испытаний зависит от производства достаточного количества АМГ, полученного в результате клонирования его гена.

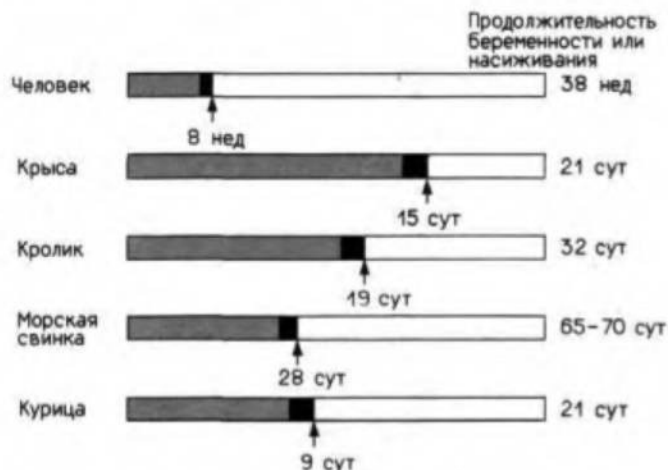


Рис. 21.11. Чувствительность мюллеровых каналов к антимюллеровскому гормону (АМГ). Области, закрашенные серым цветом, обозначают продолжительность индифферентного состояния гонады. Черные области — период, в течение которого мюллеровы каналы отвечают на воздействие АМГ. (По Josso et al., 1977.)

ваются наружные половые органы. У самок эстрогена, секретируемого яичниками плода, по-видимому, достаточно для дифференцировки мюллерова канала в матку, яйцеводы и шейку матки. Так половые хромосомы контролируют половой фенотип особи.

Центральная нервная система

Один из наиболее противоречивых вопросов, связанных с детерминацией вторичных половых признаков, — это становление поведенческих реакций, обусловленных полом. Оказалось, что в мозге у певчих птиц тестостерон регулирует увеличение числа нейронов в особых группах, специфичных для самцов. Как известно, самцы канареек или зебровых амадин обладают выразительным пением, а самки,

если и поют, то очень мало. Эти песни служат для маркировки территорий и привлечения половых партнеров. Способность петь контролируется шестью различными группами нейронов (рис. 21.12). Эти группы (ядра) соединены друг с другом нейронами. Такие ядра у самцов канареек в несколько раз больше, чем соответствующие ядра у самок, а у зебровых амадин самка может быть вовсе лишена одного из этих ядер (Arnold, 1980; Konishi, Akutagawa, 1985).

Тестостерон играет важную роль в контроле пения. Было показано, что у взрослых самцов зебровой амадины (Pröve, 1978) существует линейная корреляция между интенсивностью пения и концентрацией тестостерона в сыворотке крови. Кроме того, обнаружено, что сезонные изменения уровня тестостерона коррелируют с сезонным



Рис. 21.12. Половой диморфизм мозга у птиц. На схеме отмечены основные нервные поля, которые предположительно контролируют песню у зебровой амадины. Специфические области отмечены окружностями, причем размеры этих окружностей пропорциональны объему, занимаемому данной областью. Изученные области представлены окружностями, изображенными штриховыми линиями. Цифры внутри кружков обозначают долю клеток (в %), включивших меченый тестостерон. Связанные с полом различия в объемах трех из этих областей (HVC, RA и nXIIIs) являются статистически значимыми; область X в мозге самки зебровой амадины не обнаружена. Различия в связывании тестостерона областями HVC и MAN статистически значимы; в других отделах мозга половых различий в связывании стероидного гормона не обнаружено. Стрелками указаны пути аксонов, соединяющих эти области у самца. (По Arnold, 1980.)



Рис. 21.13. Схема, представляющая области связывания эстрогена в обобщенном мозге самки млекопитающих. (По McEwen, 1981.)

характером пения этих птиц. При снижении уровня тестостерона уменьшается не только интенсивность песни, но и размеры ядер в мозге самцов (Nottebohm, 1981). Кастрированные зяблики не поют, но после инъекции тестостерона они возобновляют пение в ноябре, хотя по законам природы они в это время года молчат (Thorpe, 1958). Инъекции тестостерона могут заставить петь самок некоторых видов птиц (Nottebohm, 1980). У таких птиц наблюдали увеличение четырех мозговых ядер, контролирующих пение, на 50–69%. С помощью радиоавтографии (Arnold et al., 1976) было выявлено, что нейроны ядер, контролирующих пение, включали меченый тестостерон, тогда как нейроны других областей тестостерона не включали. Итак, очевидно, что гормоны гонад играют важную роль в развитии отделов нервной системы, определяющих поведение, связанное с полом.

В случае млекопитающих ситуация осложняется, поскольку у этих животных трудно выделить поведенческие реакции, характерные лишь для одного пола. У крыс примером одной из таких поведенческих реакций может служить введение полового члена во влагалище самки; этот акт контролируется двигательными нейронами, обеспечивающими функционирование *mm. levator ani et bulbocavernosus*. И те и другие нейроны располагаются в спинном мозге, которое может избирательно накапливать тестостерон. У самок крыс соответствующие мышцы рудиментарны и количество связанных с ними нейронов резко уменьшено (Breedlove, Arnold, 1980). Можно полагать, что тестостерон вызывает в упомянутом ядре изменения двух типов. У плодов и новорожденных крыс он предотвращает «нормальную» гибель нейронов в этом ядре. У

самок в спинном ядре утрачивается до 70% нейронов, тогда как у самцов — лишь 25%. У взрослых крыс тестостерон способствует сохранению размеров нервных клеток и их дендритов. Площадь тел нейронов и длина дендритов в этом спинном ядре уменьшаются вдвое при кастрации взрослой крысы, но эта редукция оказывается обратимой после введения тестостерона (Nordeen et al., 1985; Kurz et al., 1986).

Тестостерон — не единственный стероид, влияющий на поведение. В мозге млекопитающих обнаружены нейроны, чувствительные к эстрогену. Они располагаются (рис. 21.13) в отделах, которые, как известно, контролируют поведение, связанное с размножением — в гипоталамусе, гипофизе и миндалинах (McEwen, 1981). Показано (Pfaff, McEwen, 1983), что эстроген изменяет электрические и химические характеристики тех нейронов гипоталамуса, хроматин которых способен связывать эстроген. Еще Тerasава и Сойер (Terasawa, Sawyer, 1969) обнаружили, что электрическая активность этих нейронов у крыс варьирует в течение сезонного эстрального цикла, повышаясь во время овуляции. Кроме того, эстроген, по-видимому, стимулирует те из нейронов этой области, которые индуцируют репродуктивное поведение самок. Если крысам после овариэктомии инъектировать эстроген прямо в гипоталамус, то они принимают особую позу (**лордоз**), стимулирующую самцов к спариванию, тогда как контрольным овариэктомизированным животным такой тип поведения не свойствен (Barfield, Chen, 1977; Rubin, Barfield, 1980). Полагают, что в основе механизма действия эстрогена на специфическую активность нейронов лежит повышение их проницаемости для ионов калия (Nabekura et al., 1986).

Дополнительные сведения и гипотезы

Развитие полового поведения

Известно, что воздействие гормонами в высоких дозах на крыс и мышей в плодный период развития влияет на их поведение во взрослом состоянии. Если новорожденных самцов крыс кастрировать, лишив их тем самым тестостерона в неонатальный период, то у них начинается циклическое выделение гонадотропина (характерное для самок) и по достижении половой зрелости в их поведении появляются черты, характерные для самок, такие, как лордоз (Tiefer, 1970). И напротив, если новорожденным крысам самкам ввести единственную дозу тестостерона в неонатальный период, то их эндокринная система начинает функционировать по мужскому типу и у них развивается характерный для самцов поведенческий стереотип. Таким образом, каждая новорожденная крыса появляется на свет, обладая способностью проявить либо мужской, либо женский тип поведения.

Однако, как это ни странно, мужские поведенческие реакции у крыс можно индуцировать путем однократной инъекции новорожденным самкам женского полового гормона эстрадиола¹ (Daughy et al., 1975). Это свойство эстрадиола способствовать маскулинизации полового поведения крыс послужило основой для создания **конверсионной гипотезы**. Согласно этой гипотезе, в мозге млекопитающих заложен женский тип поведения. Если же, однако, в критическую стадию своего развития (сразу после рождения или непосредственно перед рождением – в зависимости от вида) мозг получит эстрадиол, то произойдет дефеминизация. Клетки мозга могут либо непосредственно получать эстрадиол из кровотока, либо синтезировать его из

¹ Термины «эстроген» и «эстрадиол» часто используются как взаимозаменяемые. Однако следует иметь в виду, что эстроген относится к классу стероидных гормонов, обуславливающих установление и поддержание специфических женских признаков. Эстрадиол представляет собой один из таких гормонов, и у большинства млекопитающих (в том числе и у человека) он является наиболее сильно действующим из эстрогенов.

циркулирующего в крови тестостерона. Чтобы предупредить дефеминизацию, у самок млекопитающих связывающие эстроген сывороточные белки элиминируют свободно циркулирующий в крови эстрадиол. Что касается самцов, то у них тестостерон не связывается этими белками и поэтому проникает в мозг, где превращается в эстрадиол. У новорожденных крыс такую конверсию можно наблюдать в клетках гипоталамуса и лимбической системы – известно, что оба этих отдела мозга регулируют гормональное и репродуктивное поведение (Reddy et al., 1974).

Создается впечатление, что неонатальный эстрадиол отвечает за «дефеминизацию» мозга, а действительная маскулинизация поведения, вероятно, обуславливается тестостероном или дигидротестостероном. При химическом ингибировании реакции превращения тестостерона в эстрадиол у самцов проявляются поведенческие реакции, характерные для обоих полов (McEwen et al., 1977; Vreeburg et al., 1977). Следовательно, возможно, что, как и в случае формирования мужской половой системы, развитие мужской нервной системы включает два этапа – дефеминизацию, а затем маскулинизацию.

Экстраполяция данных от крысы к человеку – весьма рискованное занятие, тем более, что пока для человека не найдено каких-либо стереотипных, связанных только с полом, поведенческих реакций. Поведение, квалифицируемое как «мужское» в одном обществе, представляется «женским» в другом (приводя в замешательство неискушенных путешественников). Появляющиеся в научно-популярной печати публикации, в которых постулируются биологически детерминированные различия между полами в способностях или поведении, вызывают резкую критику (Kolata, 1980; Jacklin, 1981; Bleier, 1984; Fausto-Sterling, 1985). Более того, признанию специфичности того или иного типа поведения для одного из полов мешает перекрывание поведенческих реакций, проявляемых каждым полом.

Хромосомная детерминация пола у *Drosophila*

И у млекопитающих, и у насекомых, таких, как *Drosophila*, пол определяется системой XX/XY. Однако механизмы определения пола у этих групп

очень различны. У млекопитающих Y-хромосома играет кардинальную роль в определении мужского пола. Поэтому особи с генотипом XO – стерильные самки, имеющие яичники, матки и яйцеводы (однако, если у них и образуются яйца, то количество их очень невелико). У *Drosophila* детерминация пола

Таблица 21.1. Соотношение X-хромосомы и аутосом у различных половых фенотипов *Drosophila melanogaster*¹⁾

X-хромосомы	Набор аутосом (A)	Отношение X:A	Пол
3	2	1,50	Метасамка
4	3	1,33	Метасамка
4	4	1,00	Нормальная самка
3	3	1,00	Нормальная самка
2	2	1,00	Нормальная самка
2	3	0,66	Интерсекс
1	2	0,50	Нормальный самец
1	3	0,33	Метасамец

¹⁾ По Strickberger, 1968.

обусловлена равновесием между женскими детерминантами на X-хромосоме и мужскими детерминантами на аутосомах (не половых хромосомах). Если в диплоидной клетке находится всего лишь одна X-хромосома (1X:2A), то возникает самец. Если в диплоидной клетке содержатся две X-хромосомы (2X:2A), то развивается самка. Таким образом, дрозофилы с генотипом X0 – стерильные *самцы*. В табл. 21.1 представлены различные соотношения X-хромосом и аутосом и возникающий в результате пол.

У *Drosophila* и насекомых вообще встречаются **гинандроморфы** – особи, у которых одни части тела мужские, другие – женские (рис. 21.14; цветной рисунок на внутренней стороне обложки). Такие особи возникают в том случае, когда одно из эмбриональных ядер утрачивает X-хромосому. Клетки, содержащие потомки такого ядра, будут не женскими (XX), а мужскими (X0). Поскольку у насекомых нет половых гормонов, модулирующих подобные явления, каждая клетка «выбирает» свой собственный пол. Клетки X0 проявляют мужские признаки, а клетки XX – женские. Эта ситуация служит прекрасным примером связи пола с X-хромосомой. Отсюда

можно вывести и другое заключение – в определении пола у дрозофилы Y-хромосома не играет роли. Скорее всего она необходима лишь для обеспечения фертильности самцов. Их Y-хромосома активируется на поздних этапах развития при формировании спермиев.

Любая теория детерминации пола у дрозофилы должна объяснить, каким образом читается отношение X:A и как эта информация передается к генам, контролирующим мужской или женский фенотипы. Пока еще неизвестны внутренние механизмы, позволяющие клеткам узнавать отношение X:A, однако исследования последних 5 лет произвели настоящую революцию в наших представлениях о детерминации пола у дрозофилы. Большая часть этих исследований касается идентификации и анализа генов, необходимых для половой дифференцировки, и приуроченности функции этих генов к последовательным этапам развития.

Как и гомеозисные гены (гл. 18) и гены-переключатели (гл. 11), гены детерминации пола обуславливают выбор между двумя альтернативными путями развития. Мутации большинства из этих генов – *Sex-lethal* (*Sxl*), *transformer* (*tra*) и *transformer-2* (*tra-2*) трансформируют особей XX в самцов. У мух XX,

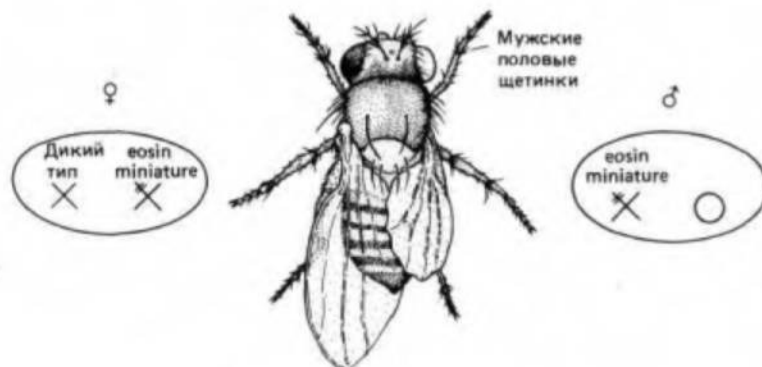


Рис. 21.14. Гинандроморф *Drosophila melanogaster*, у которого левая сторона женская (XX), а правая мужская (X0). Мужская сторона утратила X-хромосому, несущую аллели окраски глаз и формы крыла дикого типа, в результате чего на оставшейся X-хромосоме экспрессировались рецессивные аллели *white eye* и *miniature wing*. (По Morgan, 1919.)

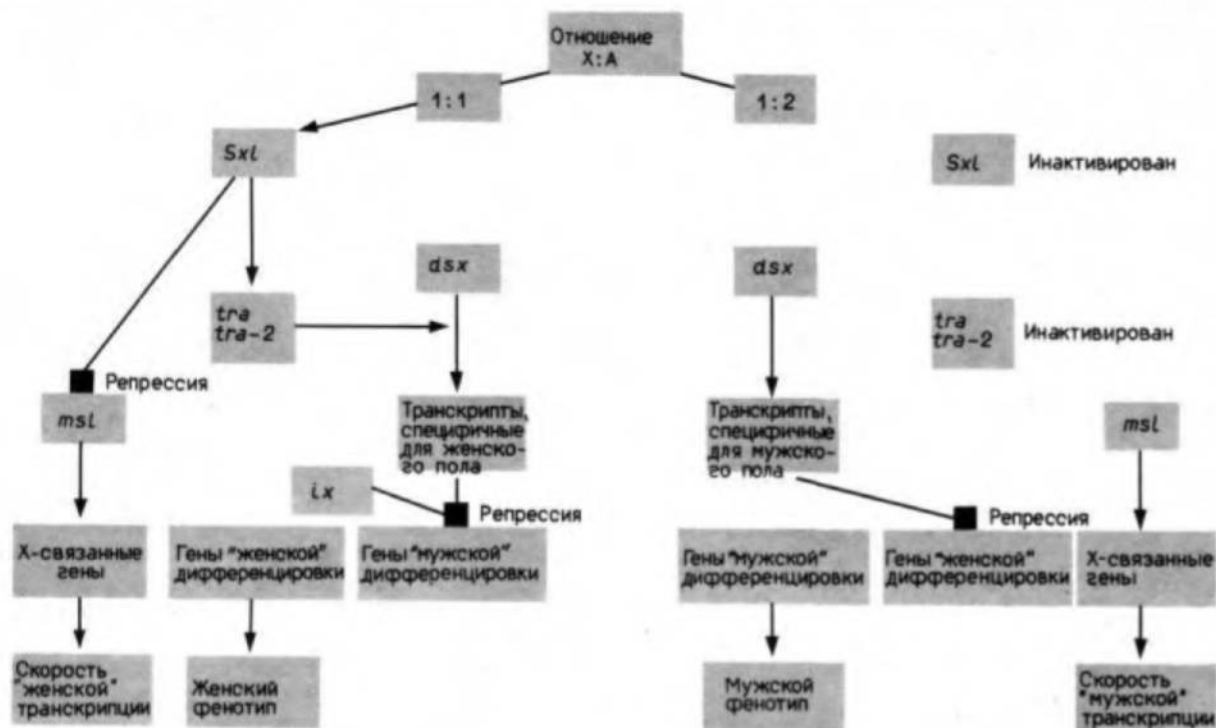


Рис. 21.15. Модель регуляторного каскада, предлагаемая для объяснения детерминации пола у *Drosophila*. Стрелки показывают активацию, а квадраты в конце линии — репрессию. Локусы *msl*, находящиеся под контролем гена *Sxl*, регулируют дозу компенсаторной транскрипции мужской X-хромосомы. (По Baker et al., 1987.)

гомозиготных по гену *intersex* (*ix*), формируется интерсексуальный (промежуточный) фенотип, когда в одном органе можно встретить и мужскую, и женскую ткань. Ген *doublesex* (*dsx*) имеет важное значение для половой дифференцировки обоих полов. Гомозиготные рецессивные аллели *dsx* превращают как мух XX, так и мух XY в интерсексов (Baker, Ridge, 1980; Belote et al., 1985a).

Представления о роли этих генов в развитии основаны на: 1) интерпретации генетических скрещиваний, следствием которых оказываются мухи, несущие две или более мутаций, и 2) анализе последствий, к которым приводит полное отсутствие продуктов одного из этих генов. Эти исследования позволили создать модель такого регуляторного каскада (рис. 21.15).

Кульминационная роль гена *Sex-lethal* в детерминации пола

Первый этап детерминации пола у *Drosophila* заключается в прочтении информации, касающейся отношения X:A. Какие элементы X-хромосомы будут «считываться» и как будет использоваться эта информация? Оказывается, высокие значения X:A отвечают за активацию гена *Sex-lethal* (*Sxl*),

«включающего» феминизацию. При низких значениях X:A (у самцов) *Sxl* остается неактивным (Cline, 1983; Salz et al., 1987). У XX-дрозофил ген *Sxl* активен в течение первых двух часов после оплодотворения; он транскрибирует особый эмбриональный тип *Sxl*-мРНК, который обнаруживается приблизительно еще два часа (Salz et al., 1989). Коль скоро активация гена *Sxl* произошла, он останется активным, несмотря на любые дальнейшие изменения отношения X:A (Sánchez, Nöthiger, 1983). Функционирование гена *Sxl* необходимо для того, чтобы XX-зародыши стали развиваться по женскому пути, а также для поддержания необходимого уровня транскрипции обеих X-хромосом. У XX-особей, где *Sxl* не функционирует, возникает мужской фенотип и X-хромосомы транскрибируются значительно быстрее (так, как транскрибировалась бы единственная X-хромосома у нормального мужского зародыша, которая должна дать столько генного продукта, сколько дают две X-хромосомы нормальной самки). У зародышей XX эта сверхстимулирующая транскрипция X-хромосомы летальна.

Полагают, что эта секс-специфическая транскрипция стимулируется «нумераторными элементами» X-хромосомы, что составляет часть «X» отношения X:A. Клайн (Cline, 1988) показал, что два

таких нумераторных элемента представляют собой гены X-хромосомы *sisterless-a* и *sisterless-b*. В упомянутой работе этот автор обнаружил вариант аутосомы дрозофилы, содержащий два участка X-хромосомы, включившиеся в аутосому путем инсерции. У самцов такая хромосома обуславливала летальный исход, потому что самцы, получившие эту хромосому, активировали свой ген *Sxl* так, как если бы они унаследовали две X-хромосомы. Активированный ген *Sxl* вызывал компенсацию дозы X-хромосомы по женскому типу (т.е. уменьшал транскрипцию), но, поскольку у самца была только одна X-хромосома, это приводило к летальному исходу. Так, у Клайна появилась возможность изучать нумераторные гены. Ими должны быть гены на той части аутосомы, которая произошла от X-хромосомы и чье присутствие активировало ген *Sxl*. Используя эту методику, Клайну удалось обнаружить гены *sisterless-a* и *sisterless-b*. Обладание двумя копиями этих генов приводило к гибели зародышей XY, а одновременная делеция одной копии каждого локуса *sis* приводила к гибели самок (у этих зародышей не активировался ген *Sxl* даже несмотря на генотип XX). Следовательно, присутствие двух копий каждого из генов *sis* равноценно наличию двух копий X-хромосомы. Гены *sis*, вероятно, являются не единственными нумераторными элементами, так как Клайн приводит случаи, когда генетический фон мухи-самца дикого типа оказывался нечувствительным к двойным дозам этих генов.

Ген *Sxl*, по-видимому, не реагирует на нумераторные элементы без материнского гена, продукт которого содержится в цитоплазме яйца. Активация *Sxl* не происходит без продукта гена *daughterless* (*da*).

Активность гена *daughterless* необходима матерям самок. Если он не работает в яйчиках, то яйца будут лишены этого продукта. Отсутствие белка *daughterless* препятствует активации гена *Sxl*. Это не влияет на зародышей XY (так как у них в любом случае не активируется *Sxl*), но окажется летальным для зародышей-самок, потому что механизм компенсации дозы вызовет более быструю, мужскую, транскрипцию обеих X-хромосом (Cline, 1986; Cronmiller, Cline, 1987), откуда происходит и название мутации. Таким образом, вскоре после оплодотворения гены *sis-a*, *sis-b* и *da* обуславливают транскрипционную активность *Sxl* только у зародышей женского пола.

Вскоре после того как произойдет транскрипция этих генов, активируется второй промотор гена *Sex-lethal*; этот ген транскрибируется как у самцов, так и у самок. Однако анализ кДНК от мРНК *Sxl* свидетельствует о том, что мРНК *Sxl* самцов отличается от мРНК *Sxl* самок (Bell et al., 1988). Это результат дифференциального процессинга РНК. Более того, оказывается, что белок *Sxl* связывается с предшественником своей собственной мРНК, обеспечивая сплайсинг по женскому типу. Поскольку у самцов нет белка *Sxl*, их новые транскрипты *Sxl* проходят процессинг по мужскому типу. Мужская мРНК *Sxl* нефункциональна. Если специфичная для самок мРНК *Sxl* кодирует белок из 354 аминокислот, то транскрипт *Sxl*, специфический для самцов, после аминокислоты 48 содержит кодон, терминирующий трансляцию (УГА). Дифференциальный процессинг РНК, помещающий этот терминирующий кодон в мРНК, специфическую для самцов, представлен на рис. 21.16. У самцов сплайсинг ядерного транскрипта дает три экзона, причем

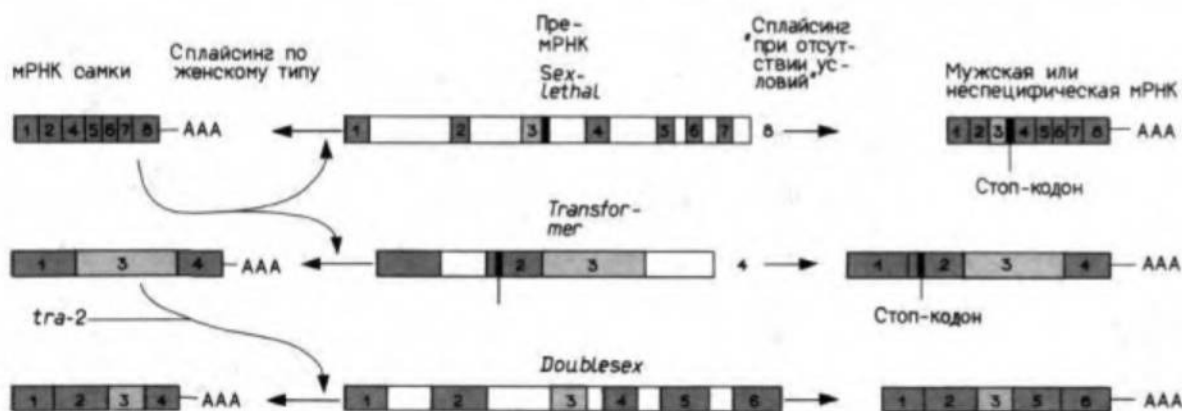


Рис. 21.16. Секс-специфический сплайсинг РНК в трех основных генах детерминации пола у дрозофилы. Пре-мРНК изображены в центральной части схемы; они идентичны в ядрах самок и самцов. В каждом случае транскрипт, специфический для самки, располагается слева, а транскрипт-результат «отсутствия условий» (будь то мужской или неспецифический) — показан справа. Экзоны обозначены цифрами, отмечено положение терминирующих кодонов и поли(А)-сайтов. (По Baker, 1989.)

терминирующий кодон находится в центральном экзоне. У самок процессинг РНК дает только два экзона, а специфичный для самцов центральный экзон вырезается в качестве большого интрона. Таким образом, мРНК, специфичная для самок, лишена терминирующего кодона.

По нуклеотидной последовательности специфического для самок транскрипта *Sxl* можно предсказать некоторые свойства его белка. Этот белок должен иметь две области, играющие важную роль в связывании РНК. Последние должны быть общими с ядерными РНК-связывающими белками, такими, как в мРНК. Белл и др. (Bell et al., 1988) предположили, что для РНК-связывающего белка, кодируемого *Sxl*, необходимы две мишени. Одна из этих мишеней — сама пре-мРНК *Sxl*. Функционирование такого механизма обеспечило бы женский путь развития после того, как произошла начальная активация. Второй мишенью специфического для самого белка *Sxl* могла бы быть пре-мРНК следующего гена этого пути — гена *transformer*.

Гены *transformer*

Ген *Sxl* регулирует детерминацию соматического пола путем контроля процессинга транскрипта гена *transformer* (*tra*). Как показано в гл. 13, сплайсинг этого гена у самцов и у самок происходит по-разному. Как у самцов, так и у самок обнаружены и специфическая для самок мРНК, и неспецифическая мРНК. Неспецифическая мРНК *tra*, подобно мужскому транскрипту *Sxl*, несет недалеко от начала матрицы терминирующий кодон, делающий белок нефункциональным (Boggs et al., 1987). В гене *tra* второй экзон неспецифической мРНК имеет терминирующий кодон. При образовании мРНК, специфической для самок, этот экзон не используется (рис. 21.16). Каким образом самки могут образовывать транскрипты, отличающиеся от транскриптов самцов? Полагают, что специфический для самок белок гена *Sxl* связывается с некими пре-мРНК *tra*, вызывая у них процессинг, при котором удаляется второй экзон (см. гл. 13). В результате образуется белок, специфический для самок. Этот белок играет решающую роль в детерминации женского пола. Если мух XY заставить производить транскрипт, специфический для самок, то эти мухи становятся самками. Неспецифический транскрипт не оказывает воздействия ни на самцов, ни на самок (McKeown et al., 1988).

Продукт *tra*, специфический для самок, действует вместе с геном *transformer-2* (*tra-2*), способствуя созданию женского фенотипа. (Ген *tra-2* не требуется для детерминации мужского пола, но он понадобится самцам позже — при сперматогенезе.) Ген *tra-2* активен постоянно и синтезирует один и тот же

продукт у самцов и у самок. Этот белок *tra-2*, как и специфический для самок белок *Sxl*, содержит РНК-связывающий домен (Amrein et al., 1988; Goralski et al., 1988). Считают, что ген *tra-2* может связываться с транскриптом гена *doublesex* только в присутствии белка *tra*, специфичного для самок (Baker, 1989).

Doublesex — ген-переключатель детерминации пола

Ген *doublesex* активен у самцов и самок, но его первичный транскрипт подвергается секс-специфическому процессингу (Baker et al., 1987). Мужские и женские транскрипты идентичны по первым трем экзонам. Различия между 3'-экзонами напоминают различия между двумя типами молекул IgM (гл. 13). Фрагмент, служащий экзоном в транскриптах, специфических для самок, является частью интрона транскриптов, специфических для самцов. Более того, молекулярный анализ доминантных *dsx*-мутаций показал, что они представляют собой инсерции в экзоне, специфическом для самок. При наличии доминантного аллеля *dsx* у XX-особи эта особь становится самцом.

Альтернативный процессинг РНК, по-видимому, является результатом активности генов *transformer* (рис. 21.16). Если активен только ген *tra-2*, то сплайсинг транскрипта *doublesex* идет по мужскому типу. Этот транскрипт производит белок, ингибирующий гены, ответственные за женские признаки клеток. Вместе с тем если ген *tra* синтезирует свой активный, специфический для самок белок, то этот белок подвергается и иному типу процессинга. Образуется специфический для самок транскрипт, продукт которого ингибирует гены, ответственные за мужские признаки. В соответствии с этой моделью (Baker, 1989) каскад генетических событий, регулирующий становление пола, сводится к тому, какой тип мРНК образуется в результате процессинга транскрипта *doublesex*. Если отношение X:A равно 1, то *Sxl* создает специфический для самок фактор сплайсинга, вызывающий сплайсинг транскрипта гена *tra* по женскому типу. Белок, специфический для самок, взаимодействует с фактором сплайсинга *tra-2*, вызывая сплайсинг пре-мРНК *doublesex* по женскому типу. Если транскрипт *doublesex* не подвергался этому воздействию, то его процессинг пойдет по типу «отсутствия условий» и даст специфическую для самца матрицу.

Гены-мишени каскада детерминации пола

У дрозофилы существует большое число белков, которые встречаются у особей одного пола и не встречаются у особей другого. У самок к этому



Рис. 21.17. Схема гермафродита и мужской особи червя *Caenorhabditis elegans*. Серым цветом выделена репродуктивная система. (Из Hodgkin, 1985.)

числу относятся белки желтка и белки яйцевой оболочки (хориона). У самцов обнаружены многочисленные белки, вызывающие поведенческие изменения у самки после спаривания и стабилизирующие сперму в женских половых путях (Wolfner, 1988). Регуляция активности генов, ответственных за синтез этих белков, осуществляется каскадом реакций, участвующих в детерминации пола. С помощью температурочувствительных (*ts*) аллелей гена *tra-2* было показано, что пути половой детерминации дрозофилы активны от стадии поздней личинки до становления взрослого организма. Аллель *tra-2^{ts}* представляет собой температурочувствительный аллель, наличие которого при пермиссивных (низких) температурах приводит к развитию женского фенотипа, а при непермиссивных (более высоких) температурах — к развитию мужского фенотипа. Повышение температуры от пермиссивной к непермиссивной на поздних личиночных стадиях и на стадии куколки заставит личинку XX или куколку XX превратиться в самца. Кроме того, если взрослого мутанта содержать при низких температурах, то его жировое тело будет синтезировать белки желтка, которые должны поступать в ооцит. При сдвиге температуры в сторону более высокой — непермиссивной — транскрипция генов, кодирующих белки желтка, снижается (Belote et al., 1985b). Заслуживают внимания данные о том, что если взрослых мух XX *tra-2^{ts}* содержать при непермиссивных температурах в течение нескольких дней, то в их поведении начинают появляться мужские черты (Belote, Baker, 1987). Несмотря на то что за последние полтора десятилетия наблюдается бурный рост наших знаний относительно детерминации пола у дрозофилы, приведенную выше модель нельзя считать полной. Механизмы, посредством которых прочитывается отношение X:A, осуществляется сплайсинг продукта гена *doublesex* и развиваются половые фенотипы различных клеток, до сих пор неизвестны. Используя результат секвенирования этих генов и выделения их продуктов, мы можем лучше понять, каким образом определяется пол у дрозофилы.

Гермафродитизм

Нематода *Caenorhabditis elegans* обычно представлена двумя типами особей — гермафродитами и самцами, причем гермафродиты¹, т.е. особи, имеющие и семенники, и яичники, преобладают по численности. У личинок образуются спермии, которые хранятся в течение всего времени развития организма (рис. 21.17). В яичнике взрослой особи продуцируются яйца, оплодотворение которых происходит по ходу их миграции в матку. (Гермафродиты *C. elegans* не копулируют сами с собой, как это происходит у некоторых других гермафродитных организмов.) Самооплодотворение почти всегда приводит к появлению нового поколения гермафродитов; лишь 0,2% потомства оказываются самцами. Эти самцы, однако, способны оплодотворять гермафродитов и, поскольку их сперма имеет конкурентное преимущество по сравнению с эндогенной спермой гермафродитов, соотношение полов у червей, полученных в результате такого спаривания, оказывается примерно следующим: 50% гермафродитов и 50% самцов (Hodgkin, 1985).

У *C. elegans* гермафродиты имеют генотип XX, а самцы — XO. Как и у дрозофилы, пол определяется соотношением X-хромосом и аутосом. У близкородственных видов нематод обнаружены самки XX, что свидетельствует о происхождении гермафродитов от самок. Соматические признаки самок и гермафродитов идентичны, единственное различие заключается в том, что гермафродиты на ранних стадиях онтогенеза вырабатывают спермии, а затем переключаются на продукцию яиц. У *C. elegans* даже обнаружена доминантная мутация (*tra-1^D*), при которой происходит трансформация особей XX или XO в фертильных самок. В колониях с таким

¹ Термин «гермафродит» происходит от имени сына Гермеса (Меркурия) и Афродиты (Венеры). Унаследовав красоту обоих родителей, он возбудил к себе любовь нимфы Салмакийского источника. Во время купания Гермафродита в источнике нимфа обняла его, моля богов соединить их навеки. Желание ее было исполнено буквально.

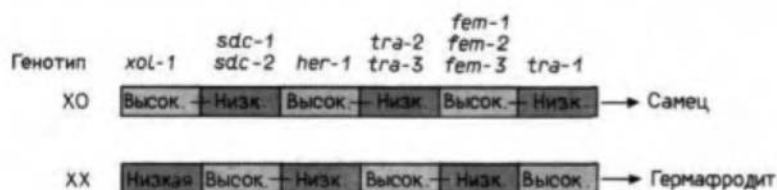


Рис. 21.18. Схематическая модель соматической детерминации пола у *C. elegans*. Полагают, что ген *sdc-1* участвует в прочтении отношения X:A. Он контролирует компенсацию дозы X-хромосомы, а также подавляет ген *her-1*, если отношение равно 1. Обозначение «высокая/низкая» отражает функциональную активность гена. Активность генов *sdc* контролирует гермафродитный тип и детерминации пола, и компенсации дозы. Активность гена *xol-1* контролирует мужской (XO) тип этих процессов. (По Hodgkin, 1985; Miller et al., 1988.)

аллелем возможно существование и функционирование трех полов (Hodgkin, 1980).

Как и у дрозофилы, детерминация пола у *C. elegans* зависит от нескольких аутосомных генов, которые прочитывают соотношение X:A и отвечают за него. Некоторые из этих генов имеют существенное значение для развития по пути гермафродитизма (гены *tra*), тогда как другие необходимы для экспрессии мужского фенотипа (гены *her*). Особи XX, гомозиготные по мутантным генам *tra*, будут трансформироваться в самцов, а мутантные аллели *her* и *fem* превратят самцов в гермафродитов. Путем создания генотипов, несущих различные комбинации этих мутаций, Ходжкину (Hodgkin, 1980) удалось сконструировать модель этого пути развития (рис. 21.18). Он обнаружил, например, что все мутации *tra* подавляют мутацию *her-1*; это указывает на более раннюю реализацию функции гена *her-1* в развитии.

Перечисленные альтернативные пути развития определяются геном *tra-1*. Если активен аллель дикого типа, то особь становится гермафродитом. Если аллель дикого типа не функционирует, то развивается особь мужского пола. Работу этого единственного гена-переключателя регулируют, по-видимому, другие гены. Первый из известных на этом пути — ген *xol-1* (XO-lethal); этот ген может отклонить развитие от пути, ведущего к гермафродитизму, вследствие чего образуется самец. Вероятно, это происходит в результате репрессии генов *sdc*, активность которых необходима для включения гена *tra-1* и развития гермафродитного организма (Miller et al., 1988). Гены *sdc-1* и *sdc-2* можно считать аналогами гена *Sxl* дрозофилы: они связаны с X-хромосомой и влияют как на детерминацию пола, так и на компенсацию дозы X-хромосомы. Полагают (Villeneuve, Meyer, 1987; Nusbaum, Meyer, 1989), что продукты гена *sdc* репрессируют активность гена *her-1* у животных с генотипом XX. Если активность *her-1* высока, то активность *tra-2* и *tra-3* низкая. Возможно, что такая комбинация активностей позволяет экспрессироваться генам *fem*, исключая *tra-1*. При низких уровнях продукта

tra-1 соматические клетки *C. elegans* становятся мужскими. И напротив, при низкой активности *her-1* активность *tra-1* высока. Это ведет к развитию гермафродитизма.

Одна из наиболее интересных проблем, связанных с нематодой *C. elegans*, — развитие у нее гермафродитизма. Каким образом такое состояние возникло у организма, по всей вероятности обладающего мужской/женской половой системой? Какие изменения на уровне генов привели к нему и можно ли объяснить это на ином, не генетическом уровне. Недавно были идентифицированы определяющие пол гены близкородственного вида *C. ramanaii* (у которого имеются и мужские, и женские особи), поэтому можно надеяться на близкое решение этой проблемы.

Если у червей и насекомых гермафродитизм — довольно обычное явление, то у позвоночных он встречается очень редко. Гермафродитизм у птиц и млекопитающих рассматривают как патологическое состояние, приводящее к бесплодию. Наиболее обычные гермафродитные позвоночные — рыбы, у которых наблюдается несколько видов гермафродитизма (Yamamoto, 1969). Некоторые рыбы являются **гонохористическими**, т. е. их пол — мужской или женский — детерминирован хромосомами. Гермафродитные виды рыб можно разделить на три группы. К первой относятся синхронные гермафродиты, у которых овариальные и тестикулярные ткани существуют одновременно, продуцируя как спермию, так и яйца. Один из таких видов — *Servanus scriba*. В природе и в условиях аквариума эта рыбка образует пары. Как только одна из рыб выметет яйца, другая их оплодотворяет. Затем они меняются ролями и та из рыб, что была самцом, выметывает яйца с тем, чтобы они были оплодотворены спермой партнера (Clark, 1959).

У других гермафродитных видов происходит генетически запрограммированная смена пола по ходу развития. В этих случаях гонады характеризуются диморфизмом, т. е. состоят из женского и мужского отделов. На определенном этапе жизненного цикла может доминировать либо тот, либо



Рис. 21.19. Изменения гонад у гермафродитной рыбы *Sparus auratus*. А. Срез через гонаду во время мужской фазы развития. Б. Переходная фаза. В. Конечная, женская фаза в развитии гонады. (Фотографии с любезного разрешения семьи Т. Yamamoto.)

другой. У **протогинетических** («прежде самка») гермафродитов животное начинает свой онтогенез в качестве самки, но позже становится самцом. Обратная ситуация наблюдается в случае **протандрических** («прежде самец») видов. Рис. 21.19 иллюстрирует

изменения гонад у протандрической рыбы *Sparus auratus*. Сначала у нее доминирует ткань семенника, но затем после переходного периода, когда можно различить и мужскую, и женскую ткани, начинает преобладать ткань яичника.

Дополнительные сведения и гипотезы

Почему существуют самцы?

На этот вопрос ответить не так просто. Гермафродиты обладают рядом преимуществ, имеющих ценность в глазах популяционных биологов. Во-первых, у них почти все особи популяции способны выводить молодь. (Самцы представляются популяционным биологам некой экстравагантностью.) Во-вторых, одна особь способна заселить новый ареал. Единственная нематода или тля может очень быстро дать начало целой популяции. В-третьих, гермафродитный организм не затрачивает энергии на поиски полового партнера и спаривание (Maynard Smith, 1979).

Тогда чем же объяснить существование самцов? Полагают, что самцы необходимы для обеспечения новых комбинаций генов. Без них генофонд вида был бы крайне ограниченным. Ван Вален (Van Valen, 1973) считает, что виды не могут оставаться стабильными. Если они не будут изменяться, то они вымрут. Это является логическим следствием эволюции хищников и паразитов данного вида,

которые постоянно совершенствуются в целях более успешного использования этого вида в качестве пищи; в отсутствие сопряженной эволюции вида-жертвы ему грозит полное уничтожение хищниками. Сформулированное правило носит название **гипотезы Красной королевы** (по имени персонажа из «Алисы в Зазеркалье», утверждавшей, что нужно бежать изо всех сил, чтобы остаться на том же самом месте). Гермафродитные виды обычно встречаются в местах обитания с незначительным числом хищников (Glesener, Tilman, 1978), что свидетельствует об их ограниченных взаимодействиях с другими организмами. Вероятно, новые комбинации генов, возникающие в результате полового размножения, в сочетании с непредсказуемостью изменений условий окружающей среды обеспечивают преимущество недостатков двуполой репродукции над эффективностью гермафродитизма (Maynard Smith, 1979; Weinshall, 1986).

Детерминация пола, зависящая от условий обитания

Зависящая от температуры детерминация пола у рептилий

Если пол большинства змей и большинства ящериц определяется половыми хромосомами при оплодотворении, то пол большинства черепах и всех видов крокодилов определяют условия среды, в которых находился развивающийся зародыш после оплодотворения. У этих рептилий решающим фактором детерминации пола служит температура в определенный период развития яйца (Bull, 1980), поэтому незначительное изменение температуры может драматически сказаться на соотношении полов. Обычно из яиц, инкубируемых при низких температурах (22–27°C), вылупляются особи какого-то одного пола, а из яиц, инкубируемых при более высоких температурах (30°C и выше), — особи другого пола. Лишь небольшой интервал температур позволяет вылупиться из одной и той же кладки яиц и самцам, и самкам. На рис. 21.20 представлено резкое изменение соотношения полов у некоторых черепах под действием температуры. Если яйца инкубировались при температуре ниже 28°C, то все вылупившиеся из них черепахи оказывались самцами. При температуре инкубации выше 32°C из каждого яйца вылуплялась самка. Таким образом, из каждой кладки яиц развиваются особи одного и того же пола. Существуют и различные отклонения от этой схемы. Так, из яиц каймановой черепахи вылупляются самки и при низких (ниже или равной 20°C), и при высоких (выше или равной 30°C) температурах. В промежутке между

этими экстремальными температурами среди вылупляющихся особей доминируют самцы.

Период развития, в течение которого происходит детерминация пола, можно установить экспериментально путем инкубации яиц в течение некоторого времени при температуре, дающей самцов, с последующим переносом в инкубатор, установленный на температуру, дающую самок. Оказалось, что у географической и каймановой черепах этот температурный эффект приурочен к средней трети периода эмбрионального развития. Фергюсон и Джоанен (Ferguson, Joanen, 1982), изучавшие детерминацию пола у миссисипского аллигатора в полевых условиях и в лаборатории, пришли к заключению, что пол этого животного определяется между 7- и 21-ми сутками инкубации. Яйца, инкубируемые при 30°C и ниже, дают самок, а при 34°C и выше — самцов. Кроме того, в гнездах, устроенных на береговом валу (34°C), развиваются самцы, а в гнездах, устроенных во влажных маршах (30°C), выводятся самки. Таким образом, пол многих видов черепах и аллигаторов определяется температурой среды, в которой развиваются яйца.

Фергюсон и Джоанен (Ferguson, Joanen, 1982) предположили, что этот способ зависимость от температуры определения пола могла использовать еще одна близкородственная группа рептилий — динозавры. Если это так, и пол динозавров определялся температурой (с незначительно различающимися пороговыми значениями для каждого из полов), то слабое изменение температуры могло привести к тому, что из яиц вылуплялись либо только самцы, либо только самки. Эта гипотеза предлагает еще одно объяснение внезапного и избирательного исчезновения данной группы рептилий.

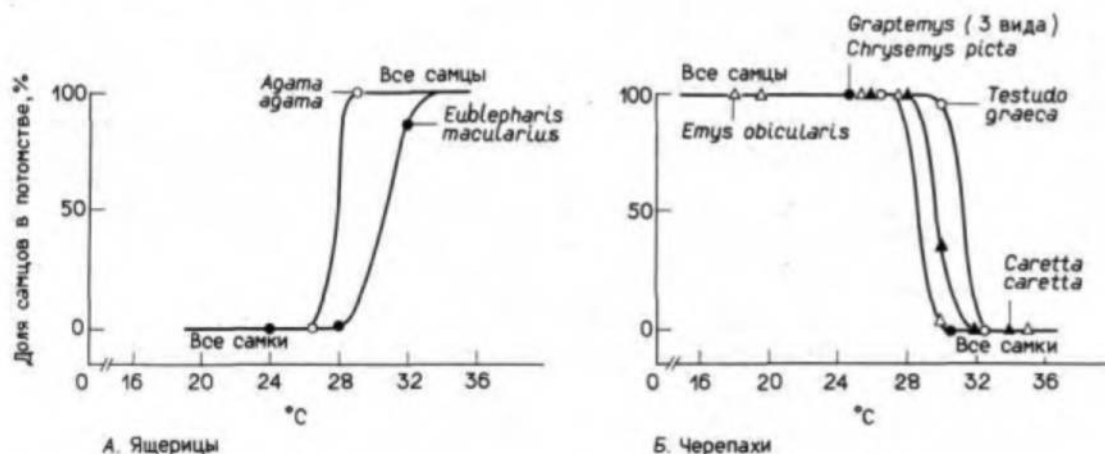


Рис. 21.20. Связь между соотношением полов и температурой инкубации у рептилий. А. Два вида ящериц, у которых повышенная температура приводит к развитию мужского потомства. Б. Семь видов черепах, у которых повышенная температура приводит к развитию женского потомства. (По Bull, 1980.)

Детерминация пола, зависящая от местоположения животного у *Bonellia vividis* и *Crepidula fornicata*

Под эхиуриды *Bonellia* зависит от того, в каком месте осядет личинка. Самка *Bonellia* — морское животное, обитающее на каменистом грунте. Длина этого животного достигает 10 см (рис. 21.21), однако имеющийся у него хоботок может вытягиваться на расстояние более 1 метра. Этот хоботок выполняет две функции. Во-первых, он собирает пищу с поверхности скал и направляет ее в пищеварительный тракт самки. Во-вторых, если на хоботок осядет личинка, то она попадет в рот самки, затем мигрирует в матку, где дифференцируется в самца размерами 1–3 мм. Итак, если личинка осядет на поверхность скалы, она становится самкой, но та же самая личинка, осевшая на хоботок самки, станет самцом. Самец проводит в теле самки остаток жизни, оплодотворяя яйца.

Бальтцер (Baltzer, 1914) показал, что культивирование личинок *Bonellia* в отсутствие самок дает почти 90% самок. Но если эти личинки культивируются в присутствии взрослых самок или их изолированных хоботков, то 70% личинок прикрепляются к хоботку и у них развиваются мужские половые структуры. Эти данные получили подтверждение в семидесятые годы (Leutert, 1974) (рис. 21.22).

Вещество (или вещества), вызывающее маскулинизацию личинок, можно выделить из хоботков взрослых самок. Когда личинок культивируют в нормальной морской воде в отсутствие взрослых самок, они становятся самками. Добавление же в морскую воду экстракта ткани хоботка приводит к тому, что большинство личинок станут либо самцами, либо промежуточными формами — ни

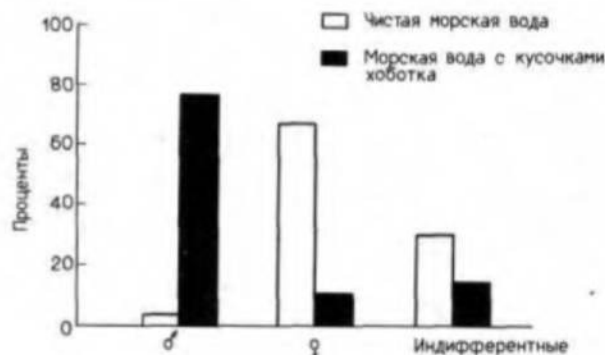


Рис. 21.22. Анализ дифференцировки *Bonellia in vitro*. Личинок *Bonellia* помещали в нормальную морскую воду и в морскую воду с кусочками женского хоботка. Большинство животных, культивированных в присутствии кусочков хоботка, стали самцами, тогда как в норме они стали бы самками. (По Leutert, 1974.)

полный самец, ни полная самка (Nowinski, 1934; Agius, 1979). Работа по очистке соединения(ий), служащего аттрактантом для оседания личинок на хоботок и вызывающего маскулинизацию, еще не завершена.

Другими примерами влияния местоположения организма на определение пола служит моллюск *Crepidula fornicata*. Эти улитки заползают друг на друга, образуя пирамиду (рис. 21.23). Молодые особи всегда бывают мужскими. На более поздних стадиях развития происходит дегенерация мужской репродуктивной системы и наступает период лабильности. Следующая стадия может быть либо мужской, либо женской, что зависит от положения моллюска в пирамиде. Если он прикреплен к самке, то становится самцом. Вместе с тем присутствие многочисленных самцов приводит к тому, что

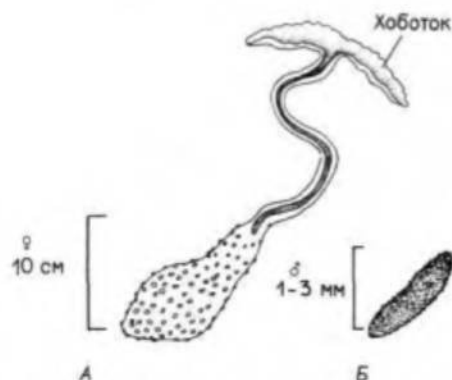


Рис. 21.21. Крайний половой диморфизм у *Bonellia vividis*. А. Самка длиной около 10 см с хоботком, который способен вытягиваться до одного метра. Б. Паразитический самец (сильно увеличен по сравнению с самкой), длина которого составляет 1–3 мм. (По Barnes, 1968.)

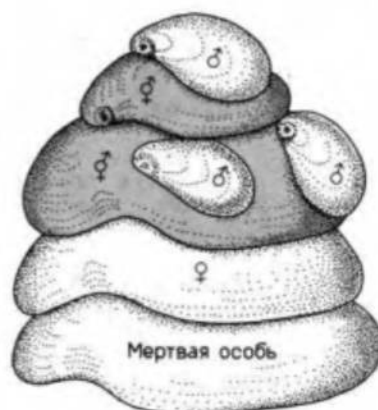


Рис. 21.23. Кластер моллюсков *Crepidula*. Две особи превращаются из самца в самку. После превращения в самок они будут оплодотворены находящимися сверху самцами. (По Сое, 1936.)

некоторые из них превращаются в самок. Однако если особь стала женской, то она никогда не трансформируется в мужскую (Сое, 1936).

Природа представляет нам целую серию вариантов, свидетельствующих о ее мастерстве. У одних видов пол определяется только хромосомами, тогда как у других устанавливается под действием окружающих условий. В пределах, ограниченных этими обширными категориями, существуют свои многочисленные варианты. Полный перечень известных механизмов детерминации пола занял бы отдельный весьма объемистый (и очень интересный) том. Но определяющий пол механизм функционирует как часть соматических физиологических механизмов, обуславливающих поддержание и размножение половых клеток. Гонады погибают со смертью тела, а находящиеся в них половые клетки способны дать начало новой жизни. К рассмотрению половых клеток мы и перейдем в следующей главе.

ЛИТЕРАТУРА

- Agius L. (1979). Larval settlement in the echinuran worm *Bonellia viridis*: Settlement on both the adult proboscis and body trunk, *Mar. Biol.*, **53**, 125–129.
- Arnold A. P. (1980). Sexual differences in the brain, *Am. Sci.*, **68**, 165–173.
- Arnold A. P., Nottebohm F., Pfaff D. W. (1976). Hormone concentrating cells in vocal control and other brain regions of the zebra finch (*Poephila guttata*), *J. Comp. Neurol.*, **165**, 487–512.
- Baker B., Nagoshi R. N., Burtis K. C. (1987). Molecular genetic aspects of sex determination in *Drosophila*, *BioEssays*, **6**, 66–70.
- Baker B. S., Ridge K. A. (1980). Sex and the single cell. I. On the action of major loci affecting sex determination in *Drosophila melanogaster*, *Genetics*, **94**, 383–423.
- Baltzer F. (1914). Die Bestimmung und der Dimorphismus des Geschlechtes bei *Bonellia*, *Sber. Phys.-Med. Ges. Münch.*, **43**, 1–4.
- Barfield R. J., Chen J. J. (1977). Activation of estrous behavior in ovariectomized rats by intracerebral implants of estradiol benzoate, *Endocrinology*, **101**, 1716–1725.
- Barnes R. D. (1968). *Invertebrate Zoology*, Saunders, Philadelphia.
- Bell S. E. (1986). A new model of medical technology development: A case study of DES, *Sociol. Health Care*, **4**, 1–32.
- Belote J. M., Baker B. S. (1987). Sexual behavior: Its genetic control during development and adulthood in *Drosophila melanogaster*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 8026–8030.
- Belote J. M., McKeown M. B., Andrew D. J., Scott T. N., Wolfner M. F., Baker B. S. (1985a). Control of sexual differentiation in *Drosophila melanogaster*, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **50**, 605–614.
- Belote J. M., Handler A. M., Wolfner M. F., Litvak K. L., Baker B. S. (1985b). Sex-specific regulation of yolk protein gene expression in *Drosophila*, *Cell*, **40**, 339–348.
- Bleier R. (1984). *Science and Gender*, Pergamon Press, New York, pp. 80–114.
- Breedlove S. M., Arnold A. P. (1980). Hormone accumulation in a sexually dimorphic motor nucleus of the rat spinal cord, *Science*, **210**, 565–566.
- Bull J. J. (1980). Sex determination in reptiles, *Q. Rev. Biol.*, **55**, 3–21.
- Burgoyne P. S., Levy E. R., McLaren A. (1986). Spermatogenic failure in male mice lacking H-Y antigen, *Nature*, **312**, 552–555.
- Cate R. L., and 18 others. (1986a). Isolation of the bovine and human genes for Müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells, *Cell*, **45**, 685–698.
- Cate R. L., Ninfa E. G., Pratt D. J., MacLaughlin D. T., Donahoe P. K. (1986b). Development of Müllerian inhibitory substance as an anti-cancer drug, Gold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **51**, 641–647.
- Clark E. (1959). Functional hermaphroditism and self-fertilization in a serranid fish, *Science*, **129**, 215–216.
- Cline T. W. (1983). The interaction between *daughterless* and *Sex-lethal* in triploids: A novel sex-transforming maternal effect linking sex determination and dosage compensation in *Drosophila melanogaster*, *Dev. Biol.*, **95**, 260–274.
- Cline T. W. (1986). A female-specific lethal lesion in an x-linked positive regulator of the *Drosophila* sex determination gene, *Sex-lethal*, *Genetics*, **113**, 641–663.
- Coe W. R. (1936). Sexual phases in *Crepidula*, *J. Exp. Zool.*, **72**, 455–477.
- Cronmiller C., Cline T. W. (1987). The *Drosophila* sex determination gene *daughterless* has different functions in the germ line versus the soma, *Cell*, **48**, 479–487.
- Doughty D., Booth J. E., McDonald P. G., Parrott R. F. (1975). Effects of oestradiol-17 β , oestradiol benzoate, and synthetic oestrogen RU2858 on sexual differentiation in the neonatal rat, *J. Endocrinol.*, **67**, 419–424.
- Eicher E. M., Phillips S. J., Washburn L. L. (1983). The use of molecular probes and chromosomal rearrangements to partition the mouse Y chromosome into functional regions. In: A. Messer and I. H. Porter (eds.), *Recombinant DNA and Medical Genetics*, Academic, New York, pp. 57–71.
- Eicher E. M., Washburn L. L. (1983). Inherited sex reversal in mice: Identification of a new primary sex-determining gene, *J. Exp. Zool.*, **228**, 297–304.
- Eicher E. M., Washburn L. L. (1986). Genetic control of primary sex determination in mice, *Annu. Rev. Genet.*, **20**, 327–360.
- Eicher E. M., Washburn L. L., Whitney J. B. III, Morrow K. E. (1982). *Mus poschiavinus* Y chromosome in the C57Bl/6J murine genome causes sex reversal, *Science*, **217**, 535–537.
- Fausto-Sterling A. (1985). *Myths of Gender*, Basic Books, New York.
- Ferguson M. W. J., Joanen T. (1982). Temperature of egg incubation determines sex in *Alligator mississippiensis*, *Nature*, **296**, 850–853.
- Fuller A. F., Budzik G. P., Krane I. M., Donahoe P. K. (1984). Müllerian inhibitory substance inhibition of a human endometrial carcinoma cell line xenografted in nude mice, *Gynec. Oncol.*, **17**, 124–132.
- Geddes P., Thomson J. A. (1890). *The evolution of Sex*, Walter Scott, London.
- Glesener R. R., Tilman D. (1978). Sexuality and the components of environmental uncertainty: Clues from geographic parthenogenesis in terrestrial animals, *Am. Nat.*, **112**, 659–673.
- Hodgkin J. (1980). More sex-determination mutants of *Caenorhabditis elegans*, *Genetics*, **96**, 649–664.
- Hodgkin J. (1985). Males, hermaphrodites, and females: Sex determination in *Caenorhabditis elegans*, *Trends Genet.*, **1**, 85–88.
- Imperato-McGinley J., Guerrero L., Gautier T., Peterson R. E. (1974). Steroid 5 α reductase deficiency in man: An inherited form of male pseudohermaphroditism, *Science*, **186**, 1213–1215.
- Jacklin D. (1981). Methodological issues in the study of sex-related differences, *Dev. Rev.*, **1**, 266–273.
- Josso N., Picard J.-Y., Tran D. (1977). The anti-Müllerian hormone, *Recent Prog. Horm. Res.*, **33**, 117–167.

- Jost A. (1953). Problems of fetal endocrinology: The gonadal and hypophyseal hormones, *Recent Prog. Horm. Res.*, **8**, 379-418.
- Kolata G. (1980). Math and sex: Are girls born with less ability? *Science*, **210**, 1234-1235.
- Konishi M., Akutagawa E. (1985). Neuronal growth, atrophy, and death in a sexually dimorphic song nucleus in the zebra finch brain, *Nature*, **315**, 145-147.
- Kurz E.M., Sengelaub D.R., Arnold A.P. (1986). Androgens regulate the dendritic length of mammalian motoneurons in adulthood, *Science*, **232**, 395-397.
- Langman J. (1981). *Medical Embryology*, 4th Ed., Williams and Wilkins, Baltimore.
- Langman J., Wilson D.B. (1982). Embryology and congenital malformations of the female genital tract. In: A. Blaustein (ed.), *Pathology of the Female Genital Tract*, 2nd Ed., Springer-Verlag, New York, pp. 1-12.
- Leutert T.R. (1974). Zur Geschlechtsbestimmung und Gametogenese von *Bonellia viridis* Rolando, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **32**, 169-193.
- Lillie F.R. (1917). The free-martin: A study in the action of sex hormones in the fetal life of cattle, *J. Exp. Zool.*, **23**, 371-452.
- Maynard Smith J. (1979). *The Evolution of Sex*, Cambridge University Press, London.
- McClung C.E. (1902). The accessory chromosome-sex determinant? *Biol. Bull.*, **3**, 72-77.
- McEwen B.S. (1981). Neural gonadal steroid actions, *Science*, **211**, 1303-1311.
- McEwen B.S., Leiberburg I., Chaptal C., Krey L.C. (1977). Aromatization: Important for sexual differentiation of the neonatal rat brain, *Horm. Behav.*, **9**, 249-263.
- McKeown M., Belote J.M., Baker B.S. (1987). A molecular analysis of *transformer*, a gene in *Drosophila melanogaster* that controls female sexual differentiation, *Cell*, **48**, 489-499.
- McLaren A., Simpson E., Tomonari K., Chandler P., Hogg H. (1984). Male sexual differentiation in mice lacking H-Y antigen, *Nature*, **312**, 552-555.
- Meyer W.J., Migeon B.R., Migeon C.J. (1975). Locus on human X chromosome for dihydrotestosterone receptor and androgen insensitivity, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **72**, 1469-1472.
- Morgan T.H. (1919). *The physical Basis of Heredity*, Lippincott, Philadelphia.
- Nabekura J., Oomura Y., Minami T., Mizuno Y., Fukuda A. (1986). Mechanism of the rapid effect of 17 β -estradiol on medial amygdala neurons, *Science*, **233**, 226-228.
- Nordeen E.J., Nordeen K.W., Sengelaub D.R., Arnold A.P. (1985). Androgens prevent normally occurring cell death in a sexually dimorphic spinal nucleus, *Science*, **229**, 671-673.
- Nottebohm F. (1980). Testosterone triggers growth of brain vocal control nuclei in adult female canaries, *Brain Res.*, **189**, 429-436.
- Nottebohm F. (1981). A brain for all seasons: Cyclical anatomical changes in song control nuclei of the canary brain, *Science*, **214**, 1368-1370.
- Nowinski W. (1934). Die vermännlichende Wirkung fraktionierter Darmextrakte des Weibchens auf die Larven der *Bonellia viridis*, *Pubbl. Staz. Zool. Napoli*, **14**, 110-145.
- Page D.C. (1985). Sex-reversal: Deletion mapping of the male-determining function of the human Y chromosome, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **51**, 229-235.
- Page D.C., de la Chappelle A., Weissenbach J. (1985). Chromosome Y-specific DNA in related human XX males, *Nature*, **315**, 224-226.
- Page D.C., and 7 others. (1987). The sex-determining region of the human Y chromosome encodes a finger protein, *Cell*, **51**, 1091-1104.
- Pfaff D.W., McEwen B.S. (1983). The actions of estrogens and progestins on nerve cells, *Science*, **219**, 808-814.
- Pritchard C.A., Goodfellow P.J., Goodfellow P.N. (1987). Mapping the limits of the human pseudoautosomal region and a candidate sequence for the male-determining gene, *Nature*, **328**, 273-275.
- Pröve E. (1978). Courtship and testosterone in male zebra finches, *Z. Tierpsychol.*, **48**, 47-67.
- Reddy V.R., Naftolin F., Ryan K.J. (1974). Conversion of androstenedione to estrone by neural tissues from fetal and neonatal rats, *Endocrinology*, **94**, 117-121.
- Robboy S.J., Young R.H., Herbst A.L. (1982). Female genital tract changes related to prenatal diethylstilbesterol exposure. In: A. Blaustein (ed.), *Pathology of the Female Genital Tract*, 2nd Ed., Springer-Verlag, New York, pp. 99-118.
- Rubin B.S., Barfield R.J. (1980). Priming of estrus responsiveness by implants of 17 β -estradiol in the ventromedial hypothalamic nuclei of female rats, *Endocrinology*, **106**, 504-509.
- Siliteri P.K., Wilson J.D. (1974). Testosterone formation and metabolism during male sexual differentiation in the human embryo, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **38**, 113-125.
- Simpson E., Chandler P., Goulmy E., Distche C.M., Ferguson-Smith M.A., Page D. (1987). Separation of the genetic loci for the H-Y antigen and for testis determination on the human Y chromosome, *Nature*, **326**, 876-878.
- Singh L., Jones K.W. (1982). Sex reversal in the mouse (*Mus musculus*) is caused by a recurrent nonreciprocal crossover involving the X and an aberrant Y chromosome, *Cell*, **28**, 205-216.
- Steinmann-Zwicky M., Nothiger R. (1985). A small region on the X chromosome of *Drosophila* regulates a key gene that controls sex determination and dosage compensation, *Cell*, **42**, 877-887.
- Stevens N.M. (1905). *Studies in spermatogenesis with especial reference to the "accessory chromosome"*, Carnegie Inst. Rep. Washington, 36.
- Strickberger M.W. (1968). *Genetics*, Macmillan, New York, p. 463.
- Terasawa E., Sawyer C.H. (1969). Changes in electrical activity in rat hypothalamus related to electrochemical stimulation of adenohipophyseal function, *Endocrinology*, **85**, 143-149.
- Thorpe W.H. (1958). The learning of song patterns by birds with especial reference to the song of the chaffinch, *Fringilla coelebs*, *Ibis*, **100**, 535-570.
- Tiefer L. (1970). Gonadal hormones and mating behavior in adult golden hamster, *Horm. Behav.*, **1**, 189-202.
- Tran D., Meusy-Dessolle N., Jossio N. (1977). Anti-Müllerian hormone is a functional marker of foetal Sertoli cells, *Nature*, **269**, 411-412.
- Van Valen L. (1973). A new evolutionary law, *Evol. Theor.*, **1**, 1-30.
- Vergnaud C., and 8 others. (1986). A deletion map of the human Y chromosome based on DNA hybridization, *Am. J. Hum. Genet.*, **38**, 109-124.
- Vigier B., Watrin F., Magre S., Tran D., Jossio N. (1987). Purified bovine AMH induces a characteristic freemartin effect in fetal rat prospective ovaries exposed to it in vitro, *Development*, **100**, 43-55.
- Villeneuve A.M., Meyer B.J. (1987). *sdv-1*: A link between sex determination and dosage compensation in *C. elegans*, *Cell*, **48**, 25-37.
- Vreeburg J.T.M., van der Vaart P.D.M., van der Schoot P. (1977). Prevention of central defeminization but not masculinization in male rats by inhibiting neonatal estrogen biosynthesis, *J. Endocrinol.*, **74**, 375-382.
- Wachtel S.S., Hall J.L., Müller U., Chaganti R.S.K. (1980). Serum-borne H-Y antigen in the fetal bovine freemartin, *Cell*, **21**, 917-926.
- Washburn L.L., Eicher E.M. (1983). Sex reversal in XY mice

- caused by a dominant mutation on chromosome 17, *Nature*, **303**, 338–340.
- Weinshall D. (1986). Why is a two-environment system not rich enough to explain the evolution of sex? *Am. Nat.*, **128**, 736–750.
- Wilson E. B. (1905). The chromosomes in relation to the determination of sex in insects, *Science*, **22**, 500–502.
- Yamamoto T.-O. (1969). Sex differentiation. In: W. S. Hoar and D. J. Randall (eds.), *Fish Physiology*, Vol. 3, Academic, New York, pp. 117–175.
- ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА К 3-МУ ИЗДАНИЮ**
- Amrein H., Gorman M., Nöthiger R. (1988). The sex-determining gene *tra-2* of *Drosophila* encodes a putative RNA binding protein, *Cell*, **55**, 1025–1035.
- Baker B. S. (1989). Sex in flies: the splice of life, *Nature*, **340**, 521–524.
- Bell L. R., Maine E. M., Schedl P., Cline T. W. (1988). *Sex-lethal*, a *Drosophila* sex determination switch gene, exhibits sex-specific RNA splicing and sequence similarity to RNA binding proteins, *Cell*, **55**, 1037–1046.
- Berta P., Hawkins J. R., Sinclair A. H., Taylor A., Griffiths B. L., Goodfellow P. N., Fellous M. (1990). Genetic evidence equating SRY and the testis-determining factor, *Nature*, **348**, 448–450.
- Boggs R. T., Gregor P., Idriss S., Belote J. M., McKeown M. (1987). Regulation of sexual differentiation in *D. melanogaster* via alternative splicing of RNA from the *transformer* gene, *Cell*, **50**, 739–747.
- Burgoyne P. S., Buehr M., Koopman P., Rossant J., McLaren A. (1988). Cell-autonomous action of the testis-determining gene: Sertoli cells are exclusively XY in XX/XY chimaeric mouse testis, *Development*, **102**, 443–450.
- Cline T. W. (1983). The interaction between *daughterless* and *Sex-lethal* in triploids: A novel sex determination and dosage compensation in *Drosophila melanogaster*, *Dev. Biol.*, **95**, 260–274.
- Cline T. W. (1986). A female-specific lethal lesion in an X-linked positive regulator of the *Drosophila* sex determination gene, *Sex-lethal*, *Genetics*, **119**, 829–862.
- Cline T. W. (1988). Evidence that *sisterless-a* and *sisterless-b* are two of several discrete "numerator elements" of the X/A sex determination signal in *Drosophila* that switch *Sxl* between two alternative stable expression states, *Genetics*, **119**, 829–862.
- Cronmiller C., Cline T. W. (1987). The *Drosophila* sex determination gene *daughterless* has different functions in the germ line versus the soma, *Cell*, **48**, 479–487.
- Goralski T. J., Edström J.-E., Baker B. S. (1988). The sex determination locus *transformer-2* of *Drosophila* encodes a polypeptide with similarity to RNA binding proteins, *Cell*, **56**, 1011–1018.
- Gubbay J., and 8 others (1990). A gene mapping to the sex-determining region of the mouse Y chromosome is a member of a novel family of embryonically expressed genes, *Nature*, **346**, 245–250.
- Jäger R. J., Anvret M., Hall K., Scherer G. (1990). A human XY female with a frame shift mutation in the candidate testis-determining gene *SRY*, *Nature*, **348**, 452–454.
- Koopman P., Münsterberg A., Capel B., Vivian N., Lovell-Badge A. (1990). Expression of a candidate sex-determining gene during mouse testis differentiation, *Nature*, **348**, 450–452.
- McLaren A. (1988). Sex determination in mammals, *Trends Genet.*, **4**, 153–157.
- Miller L. M., Plenafisch J. D., Casson L. P., Meyer B. (1988). *xol-1*: A gene that controls the male mode of both sex determination and X-chromosome dosage compensation in *C. elegans*, *Cell*, **55**, 167–183.
- Nusbaum C., Meyer B. J. (1989). The *Caenorhabditis elegans* gene *sdc-2* controls sex determination and dosage compensation in XX animals, *Genetics*, **122**, 579–593.
- Salz H. K., Cline T. W., Schedl P. (1987). Functional changes associated with structural alterations induced by mobilization of a P element inserted into the *Sex-lethal* gene of *Drosophila*, *Genetics*, **117**, 221–231.
- Salz H. K., Maine E. M., Keyes L. N., Samuels M. E., Cline T. W., Schedl P. (1989). The *Drosophila* female-specific sex-determination gene, *Sex-lethal*, has stage-, tissue-, and sex-specific RNAs suggesting multiple modes of regulation, *Genes Dev.*, **3**, 708–719.
- Sánchez L., Nöthiger R. (1983). Sex determination and dosage compensation in *Drosophila melanogaster*: Production of male clones in XX-female, *EMBO J.*, **1**, 485–491.
- Sinclair A. H. and 9 others (1990). A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif, *Nature*, **346**, 240–244.
- Villeneuve A. M., Meyer B. J. (1987). *sdc-1*: A link between sex determination and dosage compensation in *C. elegans*, *Cell*, **48**, 25–37.
- Wolfner M. F. (1988). Sex-specific gene expression in somatic tissues of *Drosophila melanogaster*, *Trends Genet.*, **4**, 333–337.

Глава 22

Сага о зародышевом пути

И поиски кончатся там,
Где начали их; оглянемся,
Как будто здесь мы впервые.

Т. С. ЭЛИОТ (1942)

Введение

Анализ развития животных мы начали с изучения процессов оплодотворения; заканчивая этот анализ, мы рассмотрим гаметогенез – совокупность процессов, приводящих к формированию спермия и яйцеклетки. Половые клетки обеспечивают непрерывность поколений, и прямые митотические предки наших собственных половых клеток когда-то находились в гонадах рептилий, амфибий, рыб и беспозвоночных. У многих животных, таких, как насекомые и позвоночные, наблюдается четкое и раннее обособление линии половых клеток от линии соматических клеток. У большого числа типов животных (и во всем царстве растений) четкого разделения половых и соматических клеток установить не удается. У таких видов (включающих кишечнополостных, плоских червей и оболочников) соматические клетки легко становятся половыми даже у взрослого организма. Почкование, ведущее к формированию зооидов у многих беспозвоночных, – не что иное, как свидетельство способности соматических клеток давать начало новым особям.

У организмов с достаточно ранним обособлением половых клеток последние возникают не в соб-

ственно гонадах. Их предшественники – **первичные половые клетки (ППК)** – мигрируют в развивающиеся гонады. Первый этап гаметогенеза, таким образом, включает заселение первичными половыми клетками полового гребня формирующейся гонады.

Образование половых клеток

Миграция половых клеток у амфибий

У бесхвостых амфибий – лягушек и жаб – половая (зародышевая) плазма отчетливо маркирована гранулами вблизи вегетативного полюса оплодотворенного яйца. Однако эта плазма недолго остается в области вегетативного полюса. Во время дробления она перемещается по богатой желтком цитоплазме вверх, и содержащие РНК гранулы оказываются связанными с клетками, выстилающими дно бластоцеля (рис. 22.1) (Vouga, 1934). Как уже упоминалось в гл. 7, Блэклер проследил миграцию этих клеток в гонаду, пересаживая блоки клеток из нейрулы *Xenopus laevis* одной линии в нейрулы другой. Оказалось, что первичные половые клетки Хе-

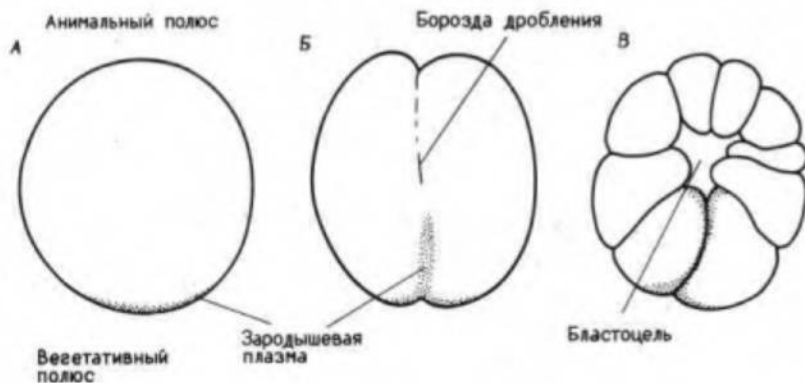


Рис. 22.1. Изменения в расположении зародышевой (половой) плазмы у раннего зародыша лягушки. Локализованная первоначально вблизи вегетативного полюса недробящегося яйца (А), она перемещается вдоль борозд дробления (Б), пока не окажется на дне бластоцеля (В). (По Vouga, 1934.)



Рис. 22.2. Миграция первичных половых клеток у лягушки. На фазово-контрастной микрофотографии среза стенки тела и дорсального мезентерия зародыша *Xenopus* видны две крупные первичные половые клетки (указаны стрелками), мигрирующие вдоль дорсального мезентерия. (Из Heasman et al., 1977, фотография с любезного разрешения этих авторов.)

porus движется из энтодермы кишки в дорсальный мезентерий, соединяющий кишку с областью формирования мезодермальных органов. Они мигрируют по этой ткани, пока не достигнут развивающейся гонады (рис. 22.2). ППК *Xenopus* передвигаются, выпуская единственную филоподию, в которую устремляется поток содержащей желток цитоплазмы. Весьма вероятно, что в этой миграции важную роль играет контактное ориентирование, так как клетки, по которым перемещаются ППК, ориентированы в направлении их миграции (Wylie et al., 1979). Кроме того, адгезию и миграцию ППК можно ингибировать, обработав мезентерий антителами против фибронектина *Xenopus* (Heasman et al., 1981). Таким образом, можно полагать, что у этих лягушек путь, по которому мигрируют половые клетки, выстлан внеклеточным матриксом, содержащим фибронектин; волокна этого матрикса ориентированы определенным образом, направляя клеточную миграцию. По ее окончании волокна утрачивают свою полярность¹.

¹ Это справедливо не для всех бесхвостых амфибий. Так, у лягушки *Rana pipiens* половые клетки следуют по тому же пути, но скорее пассивно переносятся в гонаду, чем достигают ее благодаря своей активной миграции (Subtelny, Penkala, 1984).

В специфической миграции первичных половых клеток важную роль играют и внутриклеточные факторы. Если вегетативную половую плазму яйца лягушки облучить ультрафиолетовым светом (который разрушает РНК и дисульфидные связи белков), то миграция ППК в половой гребень ингибируется или существенно замедляется (Smith, 1966; Züst, Dixon, 1977; Ikenishi, Kotani, 1979).

Первичные половые клетки хвостатых амфибий (саламандр) имеют иное происхождение; его удалось проследить с помощью реципрокных трансплантаций до областей мезодермы, подворачивающихся через вентролатеральные губы бластопопа. Помимо этого, яйца саламандр, по-видимому, вообще не содержат особой «зародышевой плазмы». Скорее всего взаимодействия дорсальных энтодермальных клеток с клетками анимального полушария создают условия, необходимые для формирования половых клеток именно в той области, которая подворачивается через вентролатеральные губы (Sutasurya, Nieuwkoop, 1974). Таким образом ППК у саламандр уже оказываются в мезодерме и им не нужно искать пути в гонаду.

Миграция половых клеток у млекопитающих

У млекопитающих первичные половые клетки мигрируют по пути, очень сходному с тем, что наблюдается у бесхвостых амфибий. Наиболее существенный прорыв в изучении путей миграции первичных половых клеток у млекопитающих произошел благодаря работам Бакстера (Baxter, 1952), который продемонстрировал, что ППК млекопитающих в больших количествах содержат щелочную фосфатазу. Реакция на присутствие этого фермента позволила отличать ППК от остальных клеток. Путь миграции ППК млекопитающих представлен на рис. 22.3. ППК мыши впервые можно увидеть в аллантаоисе 7,5-суточного зародыша (Chiquoine, 1954; Mintz, 1957). Вскоре после этого они видны в основании аллантаоиса и в прилегающем желточном мешке (рис. 22.4). К этому времени они уже разделились на две популяции, которые будут мигрировать либо в правую, либо в левую гонады. После этого ППК перемещаются каудально от желточного мешка через новообразованную заднюю кишку и затем вверх по дорсальному мезентерию в половой гребень (рис. 22.4, Б). Большая часть ППК достигает развивающейся гонады к одиннадцатому дню после оплодотворения. В процессе миграции клетки делятся, так что вместо исходной популяции в 10–100 клеток в гонаде к 12-му дню оказывается до 2500–5000 ППК. Как и ППК *Xenopus*, ППК млекопитающих тесно связаны с клетками, по которым они мигрируют. По поверхностям подстилающих клеток ППК млекопитающих передви-

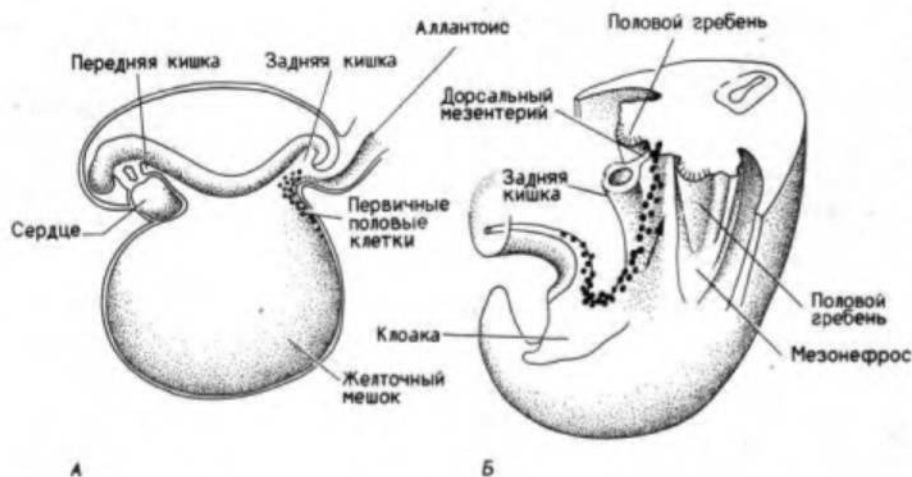


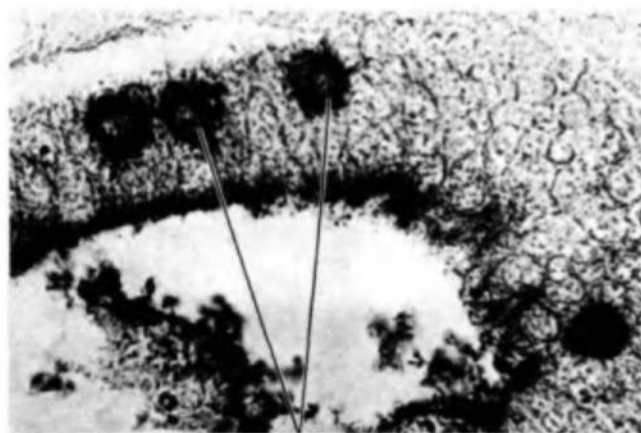
Рис. 22.3. Пути миграции первичных половых клеток у млекопитающих. А. Впервые первичные половые клетки обнаруживаются в желточном мешке вблизи места соединения задней кишки и аллантаиса. Б. Миграция первичных половых клеток по кишке и затем в дорсальном направлении по дорсальному мезентерию в половой гребень. (По Langman, 1981.)

гаются так же, образуя филоподии. Кроме того, они способны проникать через клеточные монослои и мигрировать по клеточным пластам (Stott, Wylie, 1986).

Миграция первичных половых клеток у птиц и рептилий

У птиц и рептилий ППК происходят из клеток эпибласта, мигрирующих из центральной области

area pellucida в серповидную зону энтодермального слоя у передней границы area pellucida (рис. 22.5) (Eyal-Giladi et al., 1981; Ginsburg, Eyal-Giladi, 1987). Эта внезародышевая область названа **герминативным серпом**, и в ней происходит размножение первичных половых клеток. В отличие от ППК амфибий и млекопитающих ППК рептилий и птиц мигрируют главным образом с кровотоком. ППК герминативного серпа проникают в кровеносные сосуды посредством **диapedеза** (рис. 22.6, А) – способа движения лимфоцитов и макрофагов, позволяющего клет-



А Первичные половые клетки



Б Дорсальный мезентерий Половые гребни

Рис. 22.4. Первичные половые клетки мыши (ППК) на разных стадиях их миграции. А. ППК в задней кишке мышинного зародыша (вблизи аллантаиса и желточного мешка). Видны четыре крупных ППК (темные кружки), содержащие большое количество щелочной фосфатазы. Б. ППК, окрашенные на щелочную фосфатазу, мигрируют вверх по дорсальному мезентерию и входят в половые гребни. (А – из Heath, 1978, Б – из Mintz, 1957; фотографии с любезного разрешения этих авторов.)

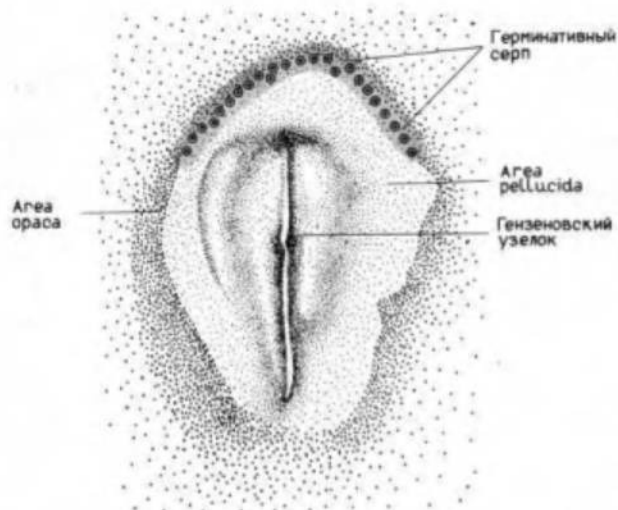


Рис. 22.5. Куриный зародыш на стадии первичной полоски с дорсальной стороны. Видна область, называемая герминативным серпом, где возникают половые клетки. (По Swift, 1914.)

кам проскальзывать внутрь кровеносных сосудов и таким же образом их покидать. Так переносимые с кровью ППК попадают в зародыш (Pasteels, 1953; Dubois, 1969). По достижении развивающейся гонады ППК должны «узнать», что им следует выйти из

кровотока (рис. 22.6, Б). Если у куриного зародыша удалить герминативный серп и кровоток этого зародыша соединить с кровотоком нормального, то первичные половые клетки нормального зародыша будут мигрировать в обе гонады (Simon, 1960). Неизвестно, чем гонады привлекают ППК. Одно из предположений состоит в том, что развивающаяся гонада выделяет хемотактическое вещество, которое служит аттрактантом для ППК, задерживая их в капиллярах у гонад (Rogulska, 1969). (Известно, что подобные вещества, секретируемые лимфоцитами в местах инфекции, служат для привлечения макрофагов и создают условия для их выхода через стенку капилляров путем диапедеза.) Возможно также, что эндотелиальные клетки капилляров гонады несут на своей поверхности вещество, обуславливающее специфическую адгезию ППК. Используя моноклональные антитела, узнающие различные поверхностные молекулы, Ауэрбах и Джозеф (Auerbach, Joseph, 1984) показали, что клеточные поверхности разных капиллярных сетей отличаются друг от друга, в частности эндотелиальные клетки капилляров яичника отличаются от клеток всех остальных капилляров, которые были изучены в этом отношении. Что бы ни представлял собою аттрактант, он не видоспецифичен. Гонада куриного зародыша будет привлекать циркулирующие клетки индейки и даже мыши (Reynaud, 1969; Rogulska et al., 1971).



Рис. 22.6. Диапедез первичных половых клеток у куриного зародыша. А. Схема диапедеза — процесса проникновения ППК в желточные кровеносные сосуды. Б. Поперечный срез через область перспективной гонады куриного зародыша. Несколько ППК в кровеносном сосуде образуют кластер по соседству с половым гребнем. Одна ППК проходит через эндотелий кровеносного сосуда, другая уже локализована в эпителии гонады. (По Romanoff, 1960.)

Дополнительные сведения и гипотезы

Адреса-маркеры клеточной поверхности и миграция лимфоцитов

Каким образом первичные половые клетки рептилий и птиц, циркулирующие в кровотоке, «узнают», что им следует выйти из капилляров только по достижении гонады? Ответа на этот вопрос пока нет, но работы в области иммунологии позволяют сделать одно предположение. Зрелые лимфоциты — это клетки крови, мигрирующие по кровеносным сосудам к лимфоидным органам, таким, как селезенка, периферические лимфатические узлы и лимфоидная ткань, связанная с кишечником. Лимфоциты тоже каким-то образом должны узнавать, когда и где покинуть кровяное русло (экстравазировать) и войти в лимфоидный орган. Более того, лимфоциты данного типа мигрируют лишь к определенному лимфоидному органу. Механизм такого «хоминга» (от англ. "home" — дом) и органной специфичности включает способность лимфоцитов избирательно прилипать к эндотелиальным клеткам сосудов этих органов. Мы уже упоминали об эндотелии лимфоидных органов, называемых **наружными эндотелиальными венулами (НЭВ)**. Его клетки располагаются непосредственно за капиллярной сетью этих органов. Моноклональные антитела, полученные против их кровеносных сосудов, способны отличать НЭВ от

других лимфоидных органов. Эндотелиальные клетки периферических лимфатических узлов несут на клеточных мембранах молекулы, обуславливающие связывание и экстравазацию узнающих их лимфоцитов. НЭВ лимфоидной ткани, связанной с кишечником, несут на своих клеточных мембранах другие молекулы, и именно эти белковые молекулы необходимы для того, чтобы определенные лимфоциты прилипли к стенке кровеносного сосуда (Streeter et al., 1988a, b; Nakamache et al., 1989). Эти адгезивные белки мембран эндотелиальных клеток называют **адресинами**. Каждому адресину наружных эндотелиальных венул, по-видимому, соответствует узнающая его комплементарная молекула на поверхности лимфоцита (Gallatin et al., 1983, 1986). Кроме того, адресины могут играть важную роль в случае возникновения тканеспецифических метастазов, так как различные опухоли обладают способностью к распознаванию и экстравазации из различных капиллярных сетей (Auerbach et al., 1987).

Итак, миграция клеток к специфическим органам может быть коррелирована со специфическим узнаванием типа «клетка — клетка».

Мейоз

Оказавшись в гонаде, ППК продолжает делиться митотически, давая начало миллионам потенциальных гамет; затем число хромосом в ППК как мужских, так и женских гонад должно быть уменьшено с диплоидного до гаплоидного. В гаплоидном наборе каждая хромосома представлена одной копией, тогда как в диплоидном наборе имеются по две копии каждой хромосомы. Для осуществления подобной редукции мужские и женские половые клетки претерпевают особое деление, называемое **мейозом**.

По завершении последнего митотического деления в ядрах происходит дополнительный синтез ДНК, в результате чего вступающие в мейоз клетки содержат удвоенное по сравнению с нормальным количество ДНК. При этом каждая хромосома состоит из двух сестринских **хроматид**, прикрепленных к общей центромере. (Другими словами, хотя клетка диплоидна, она содержит четыре копии каждой хромосомы, но эти хромосомы видны как две хроматиды, связанные вместе.) Мейоз включает два клеточных деления (рис. 22.7). При первом делении

гомологичные хромосомы (например, пара хромосом 3 в диплоидной клетке) сближаются и затем расходятся в разные клетки. Следовательно, при первом мейотическом делении гомологичные хромосомы распределяются между двумя дочерними клетками так, что каждая из них получает одну копию каждой хромосомы. Но поскольку они уже удвоены, следующее за первым делением второе деление мейоза разделяет сестринские хроматиды, которые расходятся в разные клетки. Таким образом, в результате мейоза каждая из четырех образующихся клеток получает единственную (гаплоидную) копию каждой хромосомы.

Первое деление мейоза начинается с длительной профазы, которая подразделяется на пять стадий. В ходе первой из них — стадии **лептотены** (стадия тонких нитей) хроматин хроматид оформляется в очень тонкие нити, не позволяющие в этом клубке идентифицировать отдельные хромосомы. А так как репликация ДНК уже произошла, то каждая хромосома представлена двумя параллельно лежащими хроматидами. На стадии **зиготены** (стадия спрженных нитей) гомологичные хромосомы располагаются одна вдоль другой. Такое спаривание назы-

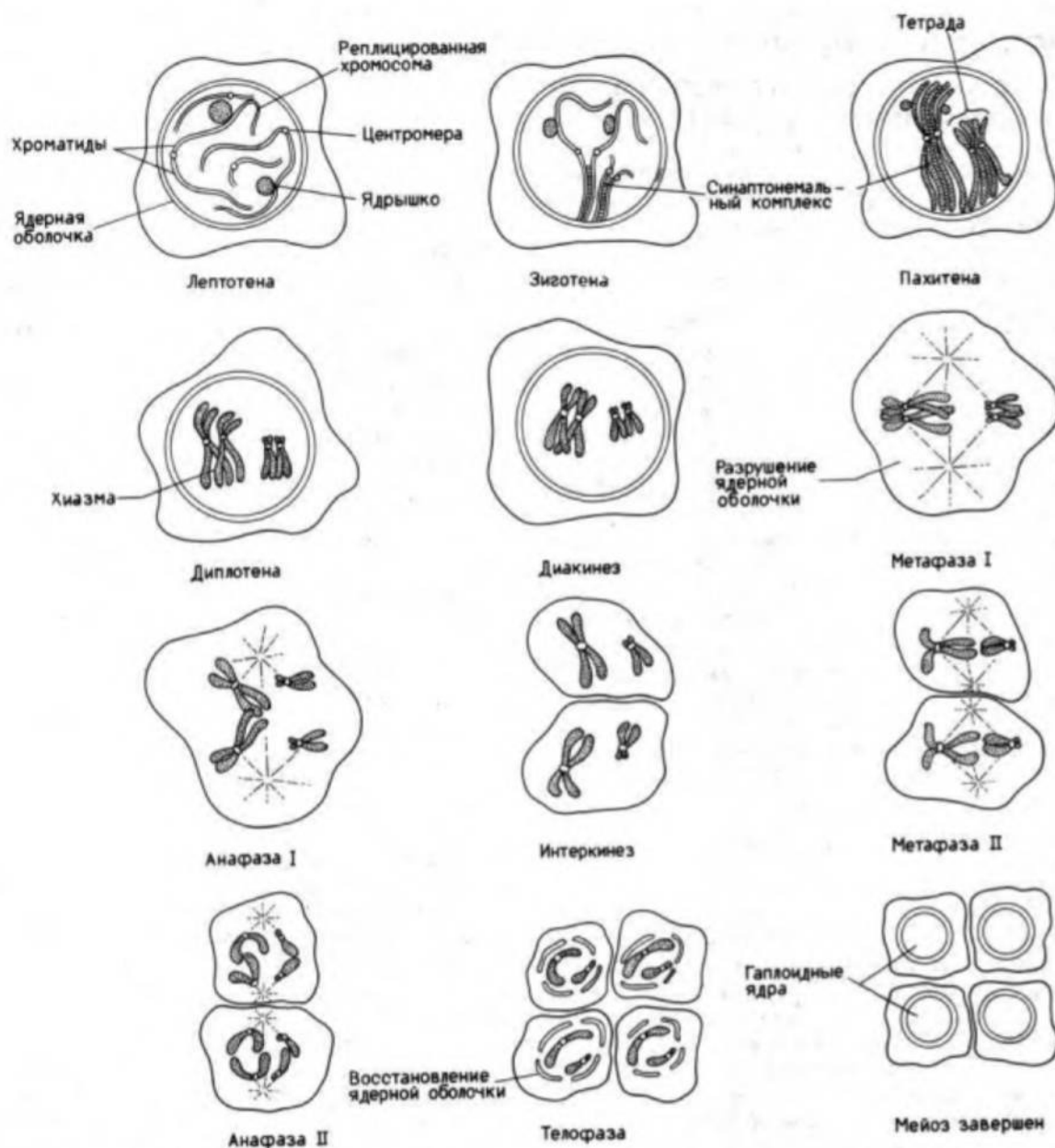


Рис. 22.7. Хромосомы во время мейоза. Стадии от лептотены до диакинеза представляют собой подстадии профазы первого деления мейоза. (По Longo, Anderson, 1974.)

вается **синапсисом**; оно служит характерной чертой мейоза и не наблюдается при митозе. Механизм, лежащий в основе узнавания каждой хромосомой своего гомолога, неизвестен, однако спаривание хромосом, по-видимому, требует присутствия ядерной мембраны и формирования белковой ленты, называемой **синаптонемальным комплексом**. Этот комплекс представляет собой структуру, напоминающую лестницу, с центральным элементом и

двумя полосами по бокам (von Wettstein, 1984). Поскольку хроматин связан с этими боковыми полосами, хроматиды оказываются соединенными (рис. 22.8). Изучение ядер мейотических клеток в электронном микроскопе (Moses, 1968; Moens, 1969) свидетельствует о том, что спаренные хромосомы связаны с ядерной мембраной, а Камингс (Comings, 1968) считает, что ядерная оболочка способствует удержанию вместе гомологичных хромосом. Кон-

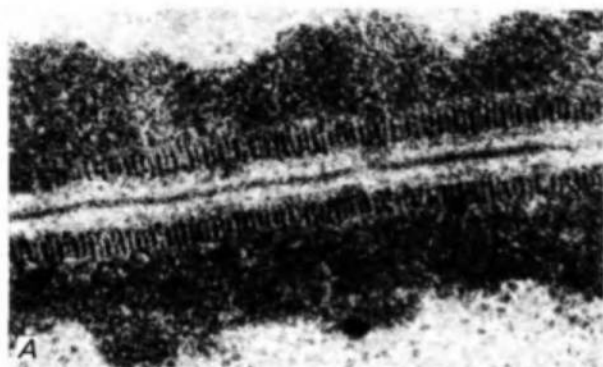


Рис. 22.8. Синаптонемальный комплекс. А. Гомологичные хромосомы, удерживаемые вместе на стадии пахитены мейоза в ооците *Neottiella*. Б. Схема, поясняющая строение синаптонемального комплекса. (А — из von Wettstein, 1971; фотография с любезного разрешения D. von Wettstein; Б — по Moens, 1974.)

фигурация, образованная четырьмя хроматидами и синаптонемальным комплексом, называется **тетрадой** или **бивалентом**.

Во время следующей стадии профазы мейоза хроматиды утолщаются и укорачиваются, в связи с чем эта стадия носит название **пахитены** (стадия толстых нитей). На этой стадии в световом микроскопе можно различить отдельные хроматиды и наблюдать кроссинговер. Во время кроссинговера (перекреста хромосом) происходит обмен генетическим материалом (гомологичными генами) между хроматидами спаренных хромосом. Кроссинговер продолжается и на следующей стадии — **диплотены** (стадия двойных нитей). При этом синаптонемальный комплекс разрушается и обе гомологичные хромосомы начинают обособляться, хотя между ними часто сохраняются места сцепления, называемые **хиазмами**; полагают, что именно в этих местах и происходит кроссинговер (рис. 22.9). Для стадии диплотены характерен высокий уровень транскрипции генов. У некоторых видов хромосомы как мужских, так и женских половых клеток принимают форму «ламповых щеток», свойственную хромосомам, активно синтезирующим РНК (гл. 11). Во время следующей стадии —

диакинеза (стадия обособления двойных нитей) центромеры расходятся, так что хромосомы остаются соединенными только в области концов хроматид. Эта завершающая стадия мейотической профазы заканчивается разрушением ядерной оболочки и миграцией хромосом к метафазной пластинке.

В течение анафазы I гомологичные хромосомы совершенно разъединены и не зависят друг от друга. За этой стадией следует стадия телофазы I, в ходе которой формируются две дочерние клетки, причем каждая включает одного партнера из пары гомологичных хромосом. После кратковременного **интеркинеза** наступает второе деление мейоза. В ходе этого деления центромеры каждой хромосомы делятся во время анафазы, вследствие чего каждая из новых клеток получает одну из двух хроматид. Весь процесс заканчивается образованием четырех гаплоидных клеток. Следует отметить, что в ходе мейоза происходит перегруппировка хромосом. Теперь каждая из четырех гаплоидных клеток имеет свой, отличный от других набор хромосом. У человека с его 23 парами различных хромосом на основе генома единственной особи может быть сформировано 2^{23} (около 10 миллионов) разнообразных типов гаплоидных клеток. Кроме того, кроссинговер, происходящий на стадиях пахитены и диплотены профазы I, еще больше увеличивает генетическое разнообразие, создавая бесчисленное число различных гамет.



Рис. 22.9. Хиазмы в диплотенном биваленте хромосом ооцита саламандры. Центромеры видны как темные кружки; стрелки указывают на две хиазмы. (Фотография с любезного разрешения J. Kezer.)

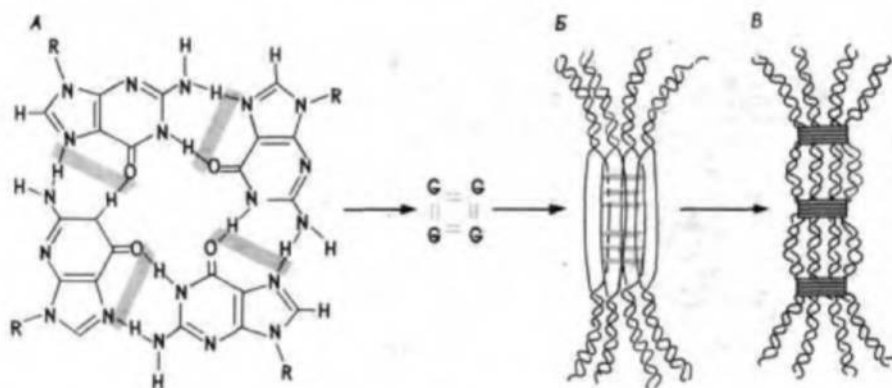


Рис. 22.10. Гипотеза Сена и Гилберта, объясняющая спаривание гомологичных хромосом в мейозе. А. Четыре нити ДНК могут образовывать устойчивые тетрады с помощью водородных связей между четырьмя гуанозиновыми остатками. Б. Схема таких стабилизированных комплексов, где серыми прямоугольниками показаны области гуанозиновых тетрад. В области этих тетрад нормальные водородные связи между комплементарными нитями разорваны. В. Схематическое изображение четырех связанных хроматид на ядерной оболочке. (По Sen, Gilbert, 1988.)

Механизм синапсиса неизвестен. Согласно одной из гипотез, некоторые участки ДНК в процессе премейотической S-фазы могут не реплицироваться, и хромосомы в этих участках останутся спаренными благодаря комплементарным парам оснований. Именно такие последовательности были обнаружены у лилии (Hotta et al., 1984), где определенные одноцепочечные участки ДНК сохраняются при формировании синаптонемального комплекса и исчезают только при его разборке. Эта дифференциально реплицирующаяся ДНК богата гуанозином и цитозином; подобное явление поздней репликации не встречается ни до, ни после этого периода созревания половых клеток, не встречается оно и в каких-либо соматических клетках. На основе этих наблюдений Сен и Балтимор, расширив исследования, предложили модель, в которой мейотические хроматиды удерживаются вместе благодаря таким реплицирующимся с опозданием участкам спирали ДНК. Наблюдая за миграцией некоторых фрагментов ДНК в геле, Сен и Балтимор пришли к выводу о том, что богатые гуанозином последовательности при физиологических условиях замыка-

ются на себя с образованием четырехцепочечных структур. Химический анализ показал, что эти последовательности параллельны друг другу, а не антипараллельны, как в нормальной двойной спирали. Формирование таких четырехцепочечных параллельных витков оказывается возможным благодаря сильным водородным связям между гуанозинами (рис. 22.10). В соответствии с моделью Сена и Балтимора подобные богатые гуанозином участки в области теломер смогли бы удерживать вместе гомологичные хромосомы у ядерной оболочки (в месте, где часто наблюдается инициация синапсиса). После соединения в области теломер «пристегиивание» (как в застежке «молния») гомологичных хроматид сопровождается спариванием внутренних богатых гуанозином участков. Доступность последних объясняется локальным раскручиванием в тех случаях, когда многочисленные гуанозиновые остатки оказываются на одной нити спирали. Эти области действуют как движок в застежке «молния». Таким образом, взаимодействие четырех двойных спиралей в мейозе может быть вызвано взаимодействием богатых гуанозином участков всех четырех нитей.

Дополнительные сведения и гипотезы

Важные решения: митоз – мейоз и спермий – яйцо

У многих видов половые клетки, мигрирующие в гонаду, бипотенциальны, т.е. могут дифференцироваться как в спермий, так и в яйцо в зависимости от своего окружения в гонаде. Если яичники саламандры трансформированы в семенники (в результате пересадки зрелого семенника самке), то заселившие их половые клетки прекращают свою оогенную

дифференцировку и начинают развиваться как спермий (Burns, 1930; Humphrey, 1931). Показано также (Inoue, Hiroyoshi, 1986; McLaren, 1983), что у комнатной мухи и у мыши гонады могут направлять дифференцировку половых клеток.

Какие гены участвуют в явлении «трансдетерминации»? Для изучения этого вопроса в наибольшей

степени подходят животные-гермафродиты, у которых переход от производства спермиев к производству яиц является естественным физиологическим событием. В исследованиях, выполненных на *Caenorhabditis elegans*, Юдит Кимбл (Judith Kimble) и ее коллеги смогли идентифицировать два «решения» или два варианта выбора, стоящие перед презумптивными половыми клетками. Первый выбор – вступать ли им на путь мейоза или оставаться митотически делящимися стволовыми клетками. Второй выбор – становиться ли мейотической клетке яйцом или спермием. Оказалось, что выбор митоз–мейоз контролируется единственной неделящейся клеткой, которая располагается в конце каждой гонады, она названа **дистальной верхушечной клеткой**. Предшественники половых клеток вблизи этой клетки делятся митотически, образуя фонд половых клеток, но по мере своего смещения от дистальной верхушечной клетки они вступают в мейоз. Если дистальную верхушечную клетку разрушить лазерным лучом, то к мейозу переходят *все* половые клетки, а если дистальную верхушечную клетку помещать в различные области гонады, то вблизи ее нового положения образуются стволовые клетки половой линии (рис. 22.11; Kimble, 1981; Kimble, White, 1981). Можно полагать, что дистальная верхушечная клетка секретирует некое вещество, поддерживающее клетки в состоянии митоза и ингибирующее их мейотическую дифференцировку.

Мы пока не знаем, каким образом дистальная

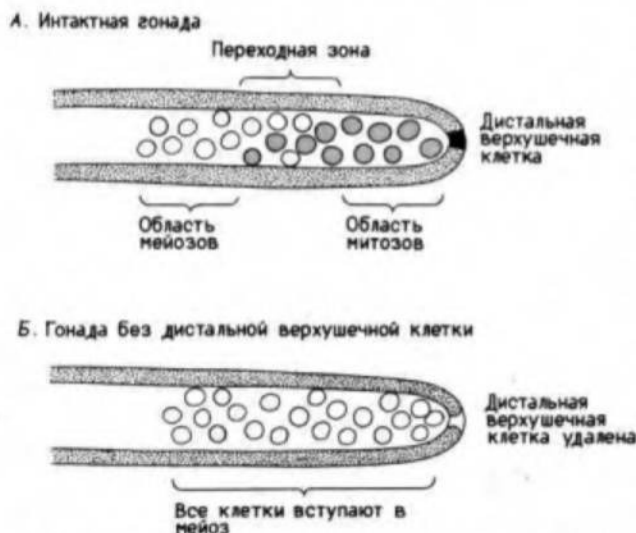


Рис. 22.11. Регуляция выбора митоз–мейоз дистальной верхушечной клеткой яйцесемеников *C. elegans*. А. Раннее развитие интактной гонады, где можно выделить области митозов (клетки обозначены серым цветом) и мейозов. Б. Гонада после удаления лазером дистальной верхушечной клетки. Все предшественники половых клеток вступают в мейоз.

верхушечная клетка взаимодействует с презумптивными половыми клетками, однако Остин и Кимбл (Austin, Kimble, 1987) обнаружили мутацию, обуславливающую фенотип, формирующийся в результате удаления дистальной верхушечной клетки. Все предшественники половых клеток нематод, гомозиготных по рецессивной мутации *glp-1*, переходят к мейозу, не оставляя митотической популяции. Вместо 1500 половых клеток, обычно обнаруживаемых на четвертой личиночной стадии гермафродитного развития, эти мутанты дают 5–8 спермиев. Предшественники половых клеток у генетических химер, у которых в мутантной личинке имеются предшественники половых клеток дикого типа, способны реагировать на дистальные верхушечные клетки и проходить митозы. Если же, однако, в личинке дикого типа обнаруживаются предшественники половых клеток мутанта, то последние все вступают в мейоз. Таким образом, создается впечатление, что ген *glp-1* отвечает за способность половых клеток реагировать на сигнал от дистальной верхушечной клетки¹.

Приступив к мейозу, клетки тем не менее оказываются перед выбором между дифференцировкой в спермий или яйца. Обычно в каждом яйцесеменике наиболее проксимальные половые клетки становятся спермиями, а наиболее дистальные (ближе к верхушке) – яйцами (Hirsh et al., 1976). Генетика этого переключения в настоящее время изучается. Как уже обсуждалось в предыдущей главе, гены детерминации пола дают либо соматических самок с функциональным гермафродитизмом, либо соматических самцов. Некоторые мутации могут изменять эти фенотипы. Так, гомозиготы по мутации *tra-1* представляют собой самцов, продуцирующих спермий, а гомозиготы по мутации *fem-1* представляют собой продуцирующих яйца самок (рис. 22.12). Двойные мутанты, гомозиготные по *tra-1* и по *fem-1*, формируют уникальный фенотип: соматически они самцы, но по половой линии – самки (Doniach, Hodgkin, 1984). На основе этого можно предположить, что *tra-1* является геном первичной детерминации пола соматических тканей, а гены *fem* отвечают за выбор спермий – ооцит.

В лаборатории Ходжкина (1985) и в лаборатории Кимбл (1986) недавно было выделено несколько генов, необходимых для выбора пути развития половых клеток. На рис. 22.13 представлена схема предполагаемого функционирования этих генов. Совместное действие генов *fem* активирует ген *fog-1*. Этот ген в половых клетках гомозигот подавляет

¹ От гена *glp-1*, по-видимому, зависит целый ряд индукционных взаимодействий у *C. elegans*. Вы, без сомнения, вспомните, что в гене *glp-1* нуждается бластомер АВ, чтобы получить индуцирующие сигналы от бластомера EMS для формирования мышц глотки (гл. 7, рис. 7.17).

А. Дикий тип: спермии и ооциты



Б. Феминизация: только ооциты



В. Маскулинизация: только спермии

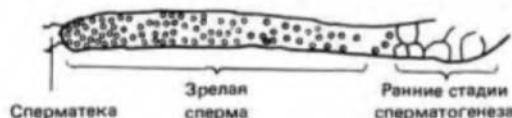


Рис. 22.12. Гонады дикого типа и мутантные у *Caenorhabditis elegans*. А. Гермафродит дикого типа сначала продуцирует спермии, а затем яйца. Б. Самка, возникшая в результате мутации *fem-1*. Видны только яйца. В. Самцы, возникшие в результате мутации *tra-1*, продуцируют только спермии. (Фотографии с любезного разрешения J. Kimble.)

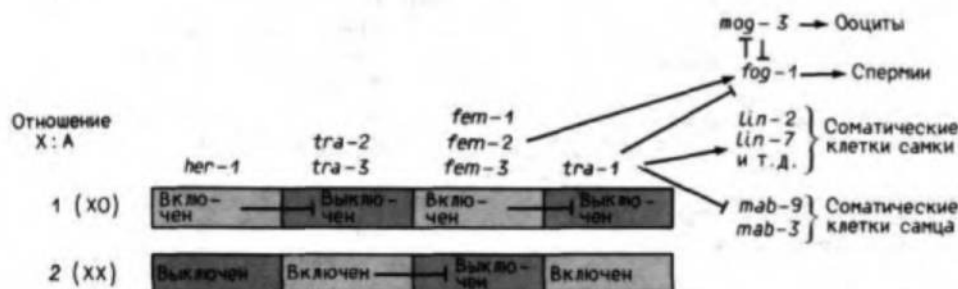


Рис. 22.13. Модель гонадной детерминации пола у нематоды *C. elegans*, основанная на анализе мутаций. Стрелками обозначена положительная регуляция, линейками — отрицательная. Если активны гены *fem*, то в половых клетках экспрессируется ген *fog-1*. Это приводит к подавлению активатора ооцита *mog-3* и к дифференцировке половой клетки в спермий. Напротив, если активируется ген *tra-1*, то подавляется ген *fog-1*, что даст возможность экспрессироваться ооцитспецифическим генам. (По Hodgkin et al., 1985.)

сперматогенез у гермафродитов XX (отсюда его название "*fog*" — от "*feminization of germ line*" — т.е. феминизация половой линии). Аллель дикого типа гена *fog-1* активирует гены, необходимые для сперматогенной дифференцировки половых клеток, и подавляет активность гена *mog-3* дикого типа (чьё отсутствие вызывает маскулинизацию половой линии; отсюда и название гена *mog-3 masculinization of*

germ line). Если же, однако, активен ген *tra-1* (чего следует ожидать у гермафродитов), гены *fog-1* инактивируются, что приводит к разрешению экспрессии ооцит-специфического гена *mog-3*. Таким образом, пол половой клетки обычно коррелирован с соматическим полом, и половая клетка *Caenorhabditis* дикого типа может стать либо спермием, либо яйцом.

Сперматогенез

Оказавшись в половом гребне мужских зародышей, первичные половые клетки позвоночных включаются в состав половых тяжей. Здесь они остаются до созревания; к этому времени в половых тяжах формируются полости и тяжи превращаются в семенные каналы, эпителий которых дифференцируется в клетки Сертоли. Клетки Сертоли снабжают развивающиеся спермиды питательными веществами и осуществляют защитную функцию; **сперматогенез** — мейотические деления, приводящие к образованию спермиев, — происходит в карманах-углублениях поверхности клеток Сертоли (рис. 22.14). Процесс превращения ППК в спермиды подробно изучен у целого ряда организмов, но здесь мы рассмотрим сперматогенез у млекопитающих. По достижении гонады ППК делятся и образуют **сперматогонии типа A₁**. Эти клетки характеризуются меньшими по сравнению с ППК размерами и овальным ядром, хроматин которого ассоциирован с ядерной мембраной. Сперматогонии типа A₁ располагаются

вблизи наружной базальной мембраны половых тяжей. Полагают, что, завершив созревание, эти сперматогонии делятся с образованием еще одного сперматогония A₁ и новой, бледнее окрашивающейся клетки — **сперматогония типа A₂**. Следовательно, каждый сперматогоний типа A₁ является стволовой клеткой, способной как к самовоспроизводству, так и к образованию клетки нового типа. Сперматогонии A₂ делятся, давая начало сперматогониям A₃, которые в свою очередь дают начало сперматогониям типа A₄, а эти последние — **промежуточным сперматогониям**. Промежуточные сперматогонии делятся, формируя **сперматогонии типа В**, митотическое деление которых приводит к образованию **первичных сперматоцитов (сперматоцитов первого порядка)** — клеток, вступающих в мейоз.

Анализируя рис. 22.15, мы обнаруживаем, что в ходе сперматогонияльных делений цитокinesis не доходит до конца. В результате незавершенных делений клетки формируют синцитий, в котором они сообщаются друг с другом посредством цитоплазматических мостиков диаметром 1 мкм (Dym,

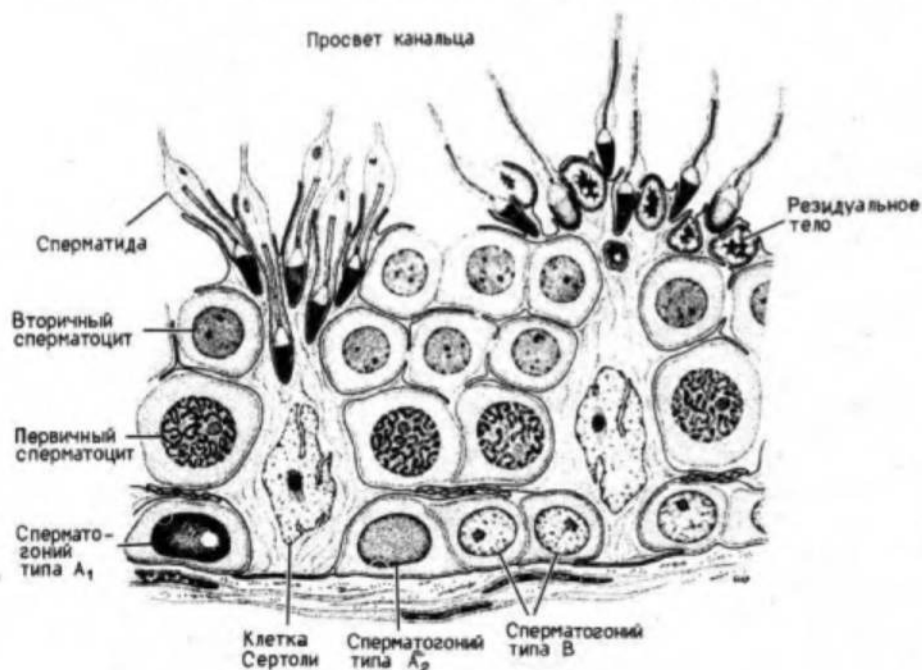


Рис. 22.14. Схематический рисунок среза через семенной канал, на котором представлены отношения между клетками Сертоли и развивающимися спермидами. По мере созревания сперматогенные клетки смещаются к просвету семенного канала. (По Дым, 1977.)

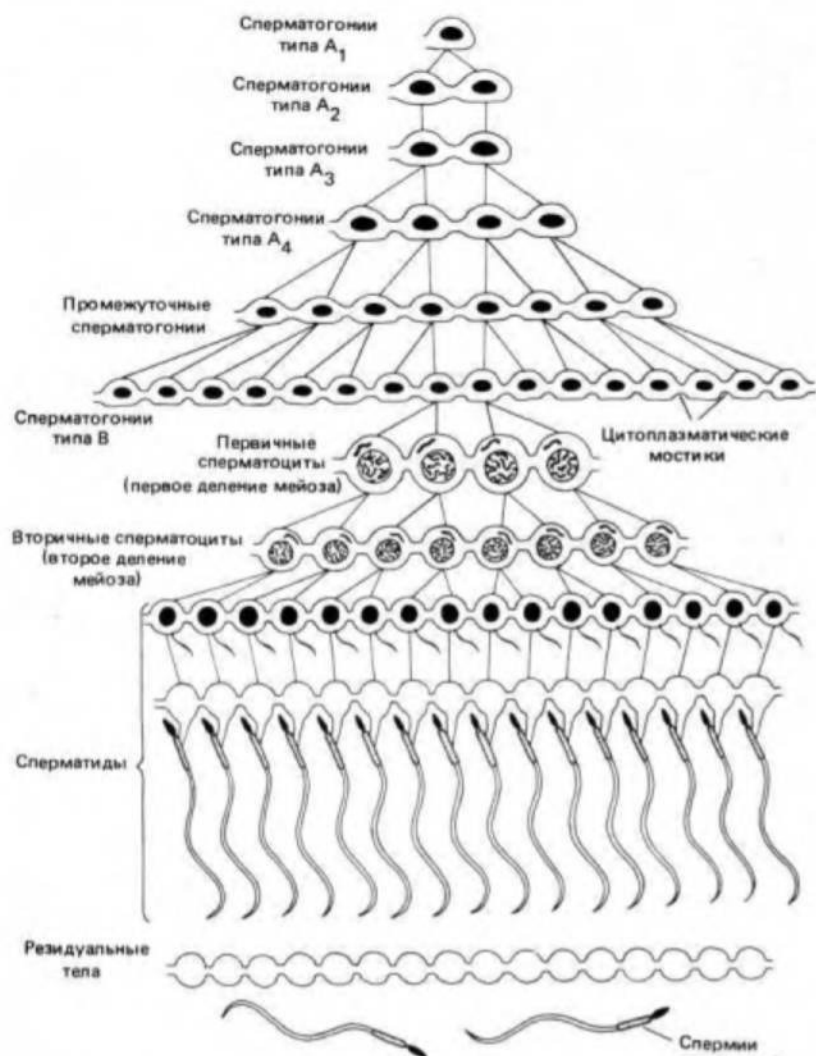


Рис. 22.15. Формирование синцитиальных клонов мужских половых клеток. (По Bloom, Fawcett, 1975.)

Fawcett, 1971). Последовательные деления дают клоны взаимосвязанных клеток, и, поскольку ионы и молекулы с легкостью проходят через межклеточные мостики, каждая когорта созревает синхронно.

Каждый первичный сперматоцит, пройдя первое деление мейоза, образует два **вторичных сперматоцита** (сперматоциты второго порядка), которые завершают второе деление мейоза. Образовавшиеся в результате гаплоидные клетки называют **сперматидами**; они по-прежнему соединены цитоплазматическими мостиками, в них содержатся гаплоидные ядра, но функционально сперматиды диплоидны, так как генный продукт одной клетки может свободно диффундировать в цитоплазму соседей (Brann et al., 1989a). По мере того как сперматогонии типа A_1 проходят путь до образования сперматид, клетки все более удаляются от базальной мембраны семенного канала к его просвету (рис. 22.14). Та-

ким образом, клетки каждого типа могут быть обнаружены в определенном слое стенки канала. Сперматиды локализованы на границе просвета; здесь они утрачивают свои цитоплазматические связи и дифференцируются в спермальные клетки.

Спермиогенез

Гаплоидные сперматиды представляют собой округлые безжгутиковые клетки, совершенно не похожие на зрелые спермии позвоночных. Следующий этап созревания спермиев — **спермиогенез** (или **спермателиоз**) — дифференцировка спермальной клетки. Для того чтобы произошло оплодотворение, спермий должен встретить яйцо и соединиться с ним, поэтому в процессе спермиогенеза спермий претерпевает дифференцировку, позволяющую ему приобрести способность к движению и взаимодействию

с яйцом. Процесс дифференцировки спермия млекопитающих представлен на рис. 2.2. Ее первый шаг заключается в образовании акросомного пузырька из аппарата Гольджи. Акросома образует шапочку, прикрывающую ядро спермия. Когда она сформирована, ядро поворачивается так, что акросомная шапочка оказывается обращенной к базальной мембране семенного канальца. Такой поворот необходим, поскольку у противоположного конца ядра из центриоли начинает формироваться жгутик, направленный в просвет канальца. На последней стадии спермиогенеза ядро уплощается и конденсируется, остатки цитоплазмы («цитоплазматическая капля») отбрасываются, и митохондрии образуют кольцо вокруг основания жгутика. Сформировавшийся спермий выходит в просвет канальца.

У мыши все развитие от стволовой клетки до сперматозоида длится 34,5 сут. Сперматогониальные стадии продолжаются 8 сут, мейоз длится 13 сут и спермиогенез занимает еще 13,5 сут. У человека развитие спермиев завершается через 74 сут. Поскольку сперматогонии типа A₁ служат стволовыми клетками, сперматогенез может продолжаться постоянно. Каждый час в семеннике человека образуется около 100 млн. спермиев, а при каждой эякуляции выделяется около 200 млн. спермиев. Неиспользованные спермии либо резорбируются, либо выносятся из тела с мочой.

Экспрессия генов при сперматогенезе

Транскрипция генов при сперматогенезе происходит преимущественно на стадии диплотены профазы мейоза. Ее наблюдали у многих организмов, но наилучшим образом она документирована в случае транскрипции Y-хромосомы у *Drosophila hydei*. Транскрипция этой хромосомы играет существенную роль в контроле спермиогенеза. Если вспомнить функции Y-хромосомы у *Drosophila*, это не покажется удивительным, поскольку в данном случае Y-хромосома не участвует в детерминации пола. Она необходима для формирования жизнеспособной спермы. Различия между дрозофилой XY и дрозофилой XO состоят в том, что последняя стерильна. Обе самцы. У *Drosophila hydei* Y-хромосома образует пять выступающих петель ДНК (рис. 22.16). В случае делеции любой из этих петель ДНК хвост спермия оказывается аномальным, причем будут присутствовать все составные части спермия, но они не будут организованы должным образом (Hess, 1973). Отсюда можно заключить, что Y-специфическая ДНК, синтезированная в профазе мейоза, утилизируется позже — при спермиогенезе.

Гены, специфически транскрибируемые в процессе сперматогенеза, — это чаще всего гены, продукты которых необходимы для обеспечения под-

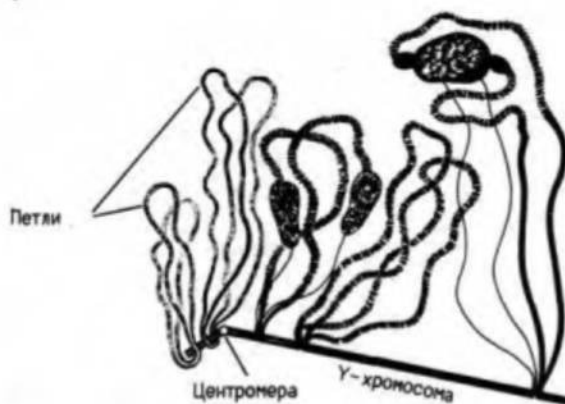


Рис. 22.16. Схема организации Y-хромосомы *Drosophila hydei* на стадии хромосом типа ламповой щетки. Отчетливо видны пять петель. (По Hess, 1973.)

вижности спермия или для связывания его с яйцом. У *Drosophila melanogaster* один из таких специфически транскрибируемых генов — ген тубулина $\beta 2$. Эта изоформа β -тубулина обнаружена только при сперматогенезе; она отвечает за формирование мейотических веретен, аксономы и микротрубочек, ассоциированных с удлиняющимися митохондриями¹. Хойл и Рэфф (Hoyle, Raff, 1990) показали, что другая изоформа β -тубулина — $\beta 3$ -тубулин (в норме экспрессирующийся в мезодермальных клетках и эпидермисе) не может заменить $\beta 2$ -тубулин. Когда они слили 5'-регуляторную область $\beta 2$ -тубулинового гена с кодирующими последовательностями гена $\beta 3$ -тубулина, ген $\beta 3$ -тубулина получил возможность экспрессироваться в развивающемся спермие. Его экспрессия в отсутствие гена $\beta 2$ -тубулина не позволяла сперматогенным клеткам пройти мейоз, сформировать аксонему и оформить ядро. Происходило только удлинение митондриев. Это свидетельствует о важности спермий-специфической транскрипции изоформ тубулина и о том, что любой другой β -тубулин не может обеспечить формирования митотического веретена и аксономы спермия.

Гены, продукты которых необходимы для связывания спермия с внеклеточным матриксом яйца, также транскрибируются во время сперматогенеза. Так, ген биндина у морского ежа транскрибируется на относительно поздних стадиях сперматогенеза, и его мРНК транслируется в биндин вскоре после ее синтеза (Nishio et al., 1990). Биндин накапливается в пузырьках, которые сливаются, образуя единственный акросомный пузырек зрелого спермия. На

¹ Образование аксономы спермия у дрозофилы — непростая задача. Хвост спермия имеет в длину 2 мм, т.е. равен длине всей мухи-самца. Еще более удивительно, что в яйцо входит весь спермий (Karr, 1988).



Рис. 22.17. Определение локализации биндина в акросоме спермия с помощью антибиндиновых антител, меченных золотом. Атомы золота позволяют выявить антитела, которые на электронно-микроскопическом снимке имеют вид черных точек. Этот спермий все еще находится в семеннике морского ежа. (Фотография с любезного разрешения D. Nishioka.)

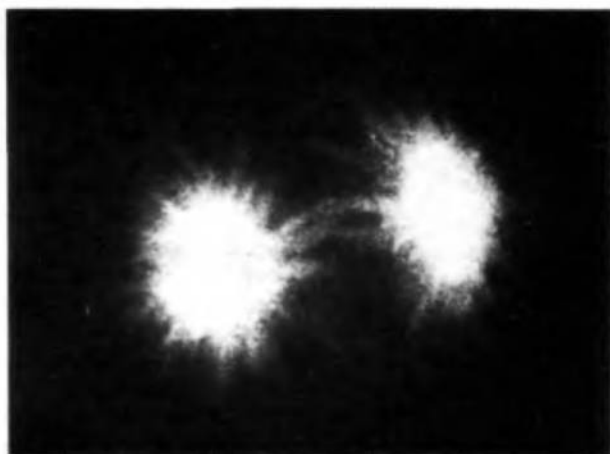
рис. 22.17 представлена локализация белка биндина в акросомном пузырьке спермия, еще находящегося в семеннике.

Как и в ооците, в сперматиде может накапливаться мРНК, которая используется позже. У птиц и млекопитающих во время сперматогенеза синтезируется специфическая форма лактатдегидрогена-

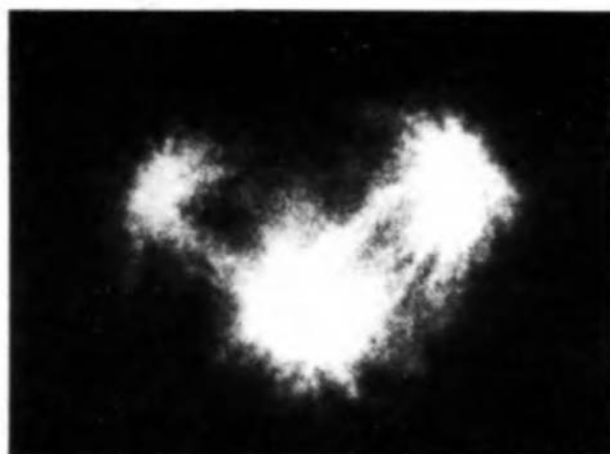
зы — ЛДГ-Х. (Этот белок позволяет развивающемуся спермио утилизировать пируват в качестве альтернативного источника энергии.) Матричная РНК для этого белка может быть обнаружена в цитоплазме сперматоцита во время профазы мейоза (Blanco, 1980). Кроме того, у многих видов на последних этапах спермиогенеза в ядре появляются небольшие белки, называемые **протаминами**. Они содержат около 32 аминокислот, которые, за исключением четырех или пяти, являются аргининовыми остатками. Они замещают ядерные гистоны, заставляя ДНК принять компактную, почти кристаллическую организацию (Marushige, Dixon, 1969). ДНК, комплементарная к протаминовой мРНК лосося, может выявить последовательности протаминовой мРНК в первичном сперматоците. Эти мРНК, однако, хранятся в рибонуклеопротеиновых частицах. Только на стадии сперматиды примерно спустя месяц после своего синтеза протаминовая мРНК транслируется в белок (Iatrou et al., 1978). Регуляция этой мРНК, по-видимому, контролируется ее 3'-нетранслируемой областью. Если эту область поместить в другую мРНК, то она придаст новой мРНК регуляторные свойства протаминовой мРНК (Braun et al., 1989b). Таким образом, как и ооцит, синтезирующий РНК на стадии диплотины и хранящий ее для более позднего использования, спермий также может накапливать мРНК для более поздней трансляции.

Имеются данные о том, что помимо транскрипции генов во время профазы мейоза происходит также транскрипция некоторых генов в сперматиде (см. обзор Palmiter et al., 1984). Такие данные для **экспрессии гаплоидного гена** были получены в результате изучения гетерозиготных мышей, у которых наблюдаются две различающиеся популяции спермиев — одна популяция, экспрессирующая мутантный фенотип, и другая, экспрессирующая признаки дикого типа. Если бы синтез РНК или белка происходил на диплоидной стадии существования клеток, то все спермии имели бы один и тот же фенотип.

У некоторых видов спермии несут важную для развития информацию, которая не может быть компенсирована яйцом. Мы уже обсуждали хромосомы млекопитающих, у которых ДНК яйца и спермия отличается по характеру метилирования (гл. 2 и 12). Известны и гены с отцовским эффектом. Так, гомозиготные рецессивные аллели самца вызывают аномалии развития у зародыша даже при условии, что самка гомозиготна по аллелю дикого типа, тогда как реципрокное скрещивание, в котором используется отец дикого типа и гомозиготная по мутантному аллелю мать, приводит к развитию нормальных зародышей. Один из таких генов с отцовским эффектом — это ген *spe-11* у *C. elegans*. Спермии,



А



Б

Рис. 22.18. Иммунофлуоресцентная микрофотография митотических веретен первого деления дробления зародыша *C. elegans*. А. Спермий принадлежит самцу дикого типа. Б. Спермий получен от самца, гомозиготного по гену отцовского эффекта *spe-11*. Вместо обычного двухполюсного митоза образуются три центриоли, организующие микротрубочки. (Из Hill et al., 1989; фотография с любезного разрешения S. Strome.)

содержащие мутантный аллель в этом локусе, не способны к прямому перемещению хромосом, ориентирующему митотическое веретено у зародыша, что свидетельствует о влиянии этой мутации на область организации микротрубочек – центриоли (рис. 22.18; Hill et al., 1989).

И наконец, гаплоидный геном конденсирован вследствие того, что гистоны замещены протаминами или специально модифицированными гистонами. Многие гистоны спермия модифицируются на стадии поздней сперматиды во время спермиогенеза. Эти модификации (такие, как дефосфорилирование N-концевых участков некоторых гистонов) вызывают конденсацию хроматина. Конденсация приводит к сильному подавлению транскрипции. В результате транскрипция мужского генома не возобновляется, пока он не реактивируется в какой-то момент развития (Россia, 1986; Green, Россia, 1988).

Оогенез

Оогенный мейоз

Оогенез – дифференцировка яиц – отличается от сперматогенеза в нескольких отношениях. Если гамета, сформированная в результате сперматогенеза, по существу является подвижным ядром, то гамета, сформированная в процессе оогенеза, обладает всеми факторами, необходимыми для инициации и поддержания метаболизма и развития. Следовательно, помимо гаплоидного ядра в оогенезе возникает запас цитоплазматических ферментов, матриц, органелл и метаболических субстратов. Таким образом, если дифференцировка спермия направлена

на приобретение подвижности, то развитие ооцита приводит к исключительно сложной организации цитоплазмы. В отличие от спермия, дифференцировка которого завершается после делений мейоза, рост ооцита происходит прежде всего во время растянутого периода профазы мейоза.

Механизмы оогенеза характеризуются значительно большим разнообразием, чем механизмы сперматогенеза. И это не удивительно, если учесть огромное разнообразие типов размножения у животных разных видов. У одних видов, таких, как морские ежи и лягушки, самка выметывает одновременно сотни или тысячи яиц, тогда как у других видов, например у человека и большинства млекопитающих, в процессе индивидуальной жизни образуется совсем немного яиц. У видов, продуцирующих тысячи яиц, оогонии служат стволовыми самовоспроизводящимися клетками, активными в течение всей жизни организма. У более экономно размножающихся видов деление оогониев приводит к образованию ограниченного числа клеток – предшественников яиц. У плода человека со второго по седьмой месяц беременности происходят быстрые деления около тысячи оогониев, что приводит к образованию приблизительно 7 млн. половых клеток (рис. 22.19). Однако после седьмого месяца эмбрионального развития число половых клеток резко падает. В течение этого периода погибает большая часть оогониев, а оставшиеся вступают в профазу первого деления мейоза (Pinkerton et al., 1961). Эти клетки, названные **первичными ооцитами**, проходят профазу первого деления мейоза до стадии диплотены и на время прекращают свое развитие. Остановка на стадии профазы первого деления мейоза

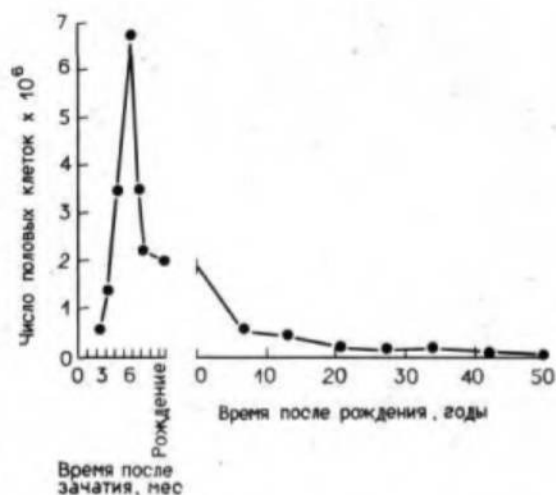


Рис. 22.19. Изменение числа половых клеток в яичнике человека. (По Baker, 1970.)

длится до полового созревания. С его началом группы ооцитов периодически возобновляют мейоз. Так, у женщины мейоз начинается на эмбриональной стадии развития и затем сигнал к возобновлению мейоза не поступает примерно до 12-летнего возраста. В действительности же некоторые ооциты оказываются заблокированы в мейотической профазе почти до 50 лет. Как следует из рис. 22.19, первичные ооциты продолжают погибать даже после рождения. Из миллионов первичных ооцитов, имеющих в яичнике при рождении, лишь около 400

созревает в течение жизни женщины.

Оогенный мейоз отличается от сперматогенного мейоза и по расположению метафазной пластинки. Когда первичный ооцит делится, его ядро, называемое **зародышевым пузырьком**, разрушается, и метафазное веретено мигрирует на периферию клетки. Во время телофазы одна из дочерних клеток практически не содержит цитоплазмы, тогда как другая получает почти все компоненты клетки (рис. 22.20). Меньшая клетка называется **первым полярным тельцем**, а большая — **вторичным ооцитом**. Во время второго деления мейоза происходит такой же неравный цитокинез. Большая часть цитоплазмы остается в зрелой яйцеклетке (**яйце**), а **второе полярное тельце** получает немного больше материала, чем гаплоидное ядро. Таким образом, оогенный мейоз служит сохранению объема цитоплазмы ооцита в единственной клетке, не допуская ее равного распределения между четырьмя клетками.

У некоторых видов животных мейоз претерпевает очень значительные модификации, давая в результате диплоидные гаметы, которые для своего развития не нуждаются в оплодотворении. Такие животные называются **партеногенетическими**. У плодовой мухи *Drosophila mangabeirai* одно из полярных телец ведет себя как спермий, «оплодотворяя» ооцит после второго деления мейоза. У других насекомых (таких, как *Moraba virgo*) и у ящерицы *Cnemidophorus uniparens* число хромосом в оогониях удваивается перед началом мейоза, и, следовательно, при уменьшении их числа вдвое восстанавливается диплоидный набор. В половых клетках кузне-

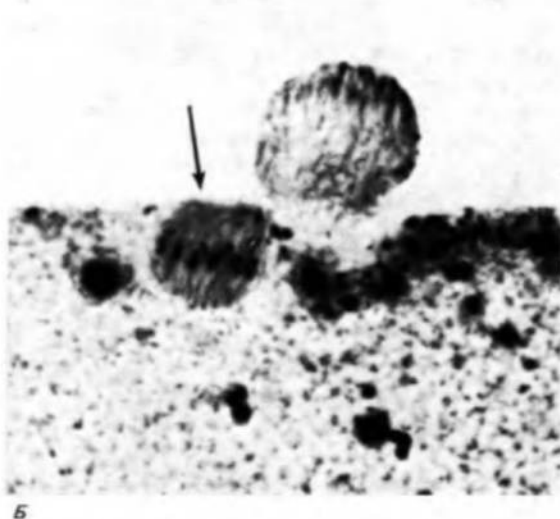
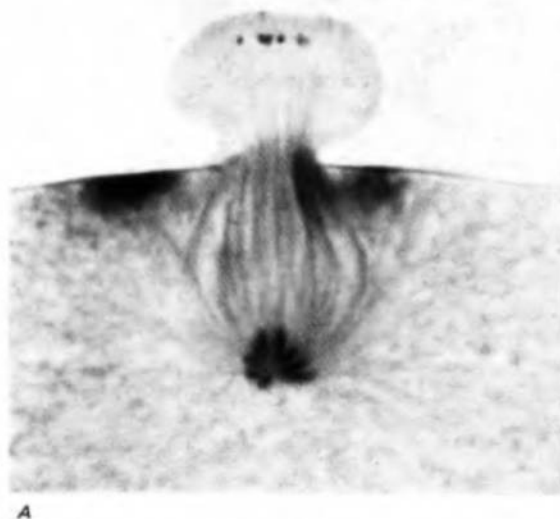


Рис. 22.20. Формирование полярного тельца в ооците сига (*Coregonus*). А. Анафаза первого деления мейоза, при котором происходит отделение первого полярного тельца вместе с его хромосомами. Б. Метафаза (внутри ооцита; стрелка) второго деления мейоза; рядом сохраняется первое полярное тельце. Первое полярное тельце может разделиться снова, а может и не делиться. (Из Swanson et al., 1981; фотография с любезного разрешения С. Р. Swanson.)

чика *Pycnoscelus surinamensis* мейоз вообще не происходит; у этого вида в результате двух митотических делений образуются диплоидные яйца (Swanson et al., 1981). В приведенных выше примерах вид представлен только самками. У других видов гаплоидный партеногенез широко используется не только как способ размножения, но и как механизм детерминации пола. У перепончатокрылых (пчелы, осы и муравьи) неоплодотворенные яйца развиваются в самцов, а оплодотворенные, ставшие диплоидными, яйца дают самок. Гаплоидные самцы способны продуцировать спермии, лишившись первого деления мейоза, вследствие чего после второго деления мейоза образуются две спермиальные клетки.

Созревание ооцитов у амфибий

Яйцо обладает потенциальной способностью к развитию, и у некоторых видов, как уже было упомянуто, оплодотворение даже не обязательно. Материал, накопленный в цитоплазме ооцита, включает источники энергии и органеллы (желток и митохондрии), ферменты и предшественники синтеза ДНК, РНК и белка, запас информационных РНК, структурные белки и морфогенетические детерминанты. Частичный перечень веществ, запасенных в цитоплазме ооцита, представлен в табл. 22.1. Этот материал накапливается главным образом во время мейотической профазы I, которая часто подразделяется на **превителлогенную** (от греч. — перед формированием желтка) и **вителлогенную** (желток-образующую) фазы.

Таблица 22.1. Клеточные компоненты, запасенные в зрелом ооците *Xenopus laevis*

Компонент	Приблизительное превышение соответствующего количества в клетках личинки
Митохондрии	100 000
РНК-полимеразы	60 000–100 000
ДНК-полимеразы	100 000
Рибосомы	200 000
тРНК	10 000
Гистоны	15 000
Дезоксирибонуклеозидтрифосфаты	2500

Из Laskey, 1974.

Яйца рыб и амфибий происходят от популяции оогонимальных стволовых клеток, способных ежегодно давать новую генерацию ооцитов. У лягушки *Rana pipiens* оогенез длится 3 года. В течение первых двух лет происходит очень медленное увеличение размеров ооцита. В течение третьего года быстрое накопление желтка приводит к тому, что ооцит приобретает характерные для него размеры (рис. 22.21). Созревание ооцитов осуществляется партиями: первая генерация созревает вскоре после метаморфоза, следующая — годом позже.

Вителлогенез происходит по достижении ооцитом стадии диплотены профазы мейоза. Эта стадия характеризуется также появлением в ядре хромосом типа ламповых щеток, на которых идет активный синтез РНК (гл. 11). Желток представляет собой не

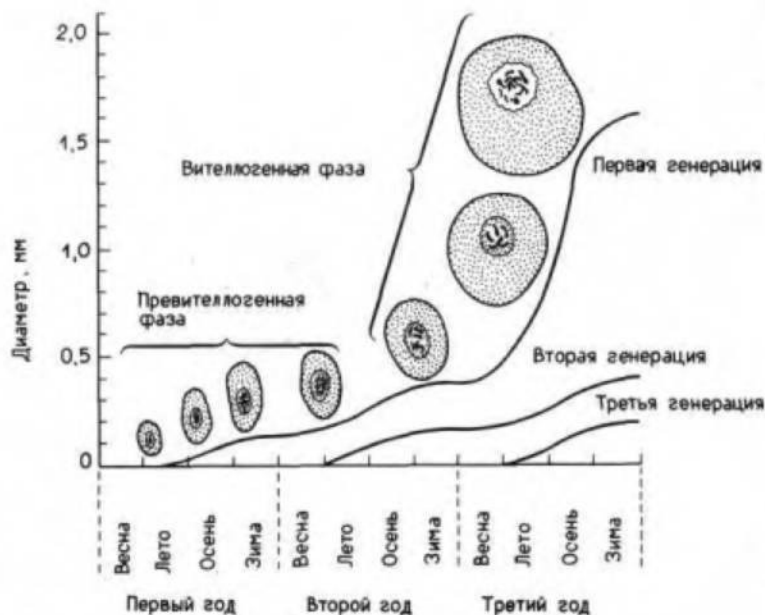


Рис. 22.21. Рост ооцитов лягушки. В течение первых трех лет жизни формируются три генерации ооцитов. На графике прослежен рост ооцитов первой генерации. (По Grant, 1953.)



Рис. 22.22. Желточная пластинка ооцита амфибии. (Фотография с любезного разрешения Л. К. Опреско.)

какое-то одно вещество, а смесь продуктов, используемых для питания зародыша. Основным компонент желтка — белок с молекулярной массой 470 000 дальтон, называемый **вителлогенином**. Он синтезируется не в ооците лягушки (как большая часть белков желтка у таких организмов как кольчатые черви или речной рак), а в печени и в яичник доставляется с кровью (Flickinger, Rounds, 1956). Этот крупный белок проходит между фолликулярными клетками яичника и включается в ооцит путем **микропиноцитоза** — отщипывания внутрь клетки одетых мембраной пузырьков в основании микроворсинок (Dumont, 1978). В зрелом ооците вителлогенин расщепляется на два меньших белка — высокофосфорилированный **фосвитин** и липопротеин **липовителлин**. Оба белка совместно упакованы в ограниченные мембраной **желточные пластинки** (рис.

22.22). Гликогеновые гранулы и липохондрияльные включения служат соответственно местами хранения углеводных и липидных компонентов желтка.

Большая часть яиц характеризуется высокой степенью асимметрии, и именно во время оогенеза происходит спецификация их анимально-вегетативной оси. Данилчик и Герхарт (Danilchik, Gerhart, 1987) показали, что, несмотря на повышение концентрации желтка в ооците *Xenopus* примерно в десять раз в направлении от анимального к вегетативному полюсу зрелого яйца, включение вителлогенина одинаково по всей поверхности ооцита. Различия в концентрации желтка обусловлены его перемещением *внутри* ооцита, и это зависит от места вхождения белков желтка. Если желточные пластинки формируются в будущем анимальном полушарии, то они перемещаются внутрь, к центру клетки. Что же касается вегетативных желточных пластинок, то они не изменяют своего положения, оставаясь в течение длительного времени на периферии и постепенно увеличиваясь в размерах. Они медленно смещаются от кортекса вглубь, а их место занимают новые желточные пластинки, образующиеся у поверхности. В результате этого дифференциального внутриклеточного транспорта в вегетативном полушарии количество желтка возрастает до тех пор, пока здесь не сосредоточится около 75% желтка зрелого ооцита *Xenopus* (рис. 22.23). Механизм такой локализации пока остается неизвестным.

По мере отложения желтка расположение оргanelл также становится асимметричным. Из аппарата Гольджи формируются кортикальные гранулы; их положение сначала не упорядочено, и они рассеяны по всей цитоплазме ооцита, но затем мигрируют к периферии клетки. К этому времени приурочена

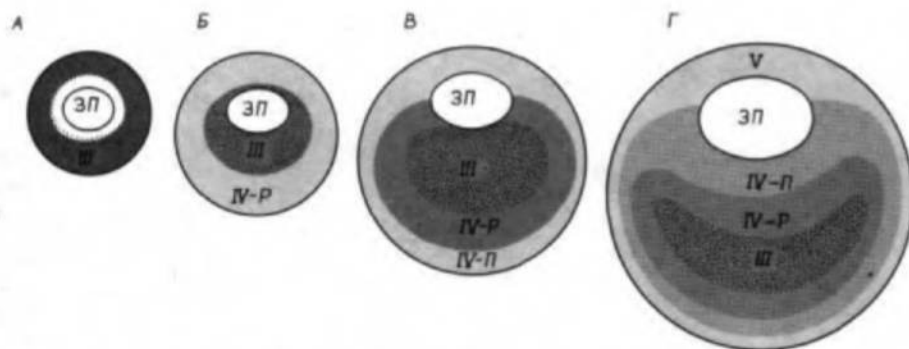


Рис. 22.23. Установление анимально-вегетативной полярности в распределении желточных пластинок в ооците *Xenopus*. А. У ооцитов поздней стадии III (600 мкм) желточные пластинки поступают в клетку равномерно по всей поверхности. По мере роста ооцита (Б–В) пластинки с будущего анимального полюса смещаются к вегетативному, а пластинки вегетативного полюса своего положения не меняют. Все больше желтка поступает в яйцо по всей площади поверхности. К концу вителлогенеза (Г) все наиболее ранние пластинки (III) оказываются в вегетативном полушарии, где теперь сосредоточено около 75% желтка ооцита. Время поступления желтка в пластинки ооцита обозначено разной интенсивностью серого цвета и римскими цифрами: III — пластинки стадии III; IV-P — пластинки ранней стадии IV; IV-P — пластинки поздней стадии IV; V — пластинки стадии V, ЗП — зародышевый пузырек. (По Danilchik, Gerhart, 1987.)

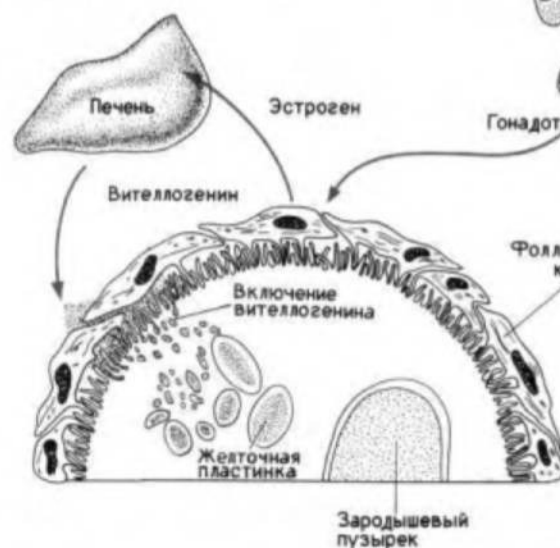
репликация митохондрий; делясь, они дают начало миллионам этих органелл, которые будут во время дробления распределяться между разными клетками. (У *Xenopus* новые митохондрии не образуются до начала гаструляции.) Ближе к концу вителлогенеза цитоплазма ооцита становится стратифицированной (многослойной). Кортикальные гранулы, митохондрии и пигментные гранулы обнаруживаются на периферии клетки, образуя кортикальный слой ооцита. Во внутренней цитоплазме возникают четкие градиенты. Если желточные пластинки все более концентрируются у вегетативного полюса ооцита, то гликогеновые гранулы, рибосомы, митохондрии и эндоплазматический ретикулум обнаруживаются все ближе к анимальному полюсу. Даже специфические мРНК, запасенные в цитоплазме, локализуются в определенных местах ооцита (гл. 7).

Точный механизм установления этих градиентов пока неизвестен, однако использование ингибиторов позволяет заключить, что в локализации специфических мРНК и морфогенетических факторов важную роль играет цитоскелет. Было показано (Yisraeli et al., 1990), что Bgl-мРНК транслируется в вегетативный кортекс путем двухступенчатого процесса (см. рис. 7.9). Во время первой фазы для перемещения Bgl-мРНК в вегетативное полушарие необходимы микротрубочки. Во время второй фазы с по-

мощью микрофиламентов происходит закоривание Bgl-мРНК в кортексе.

У *Xenopus* стадия лептотены мейоза длится всего лишь 3–7 сут, зиготена занимает от 5 до 9 сут и пахитена продолжается около 3 нед. Стадия диплотены, однако, может длиться годы. Даже если это и так, вителлогенез занимает только часть диплотены, и сигнал к разрушению ядра (зародышевого пузырька) возникает лишь после завершения вителлогенеза. Регуляция этих событий контролируется гормональными взаимодействиями со стороны гипоталамуса, гипофиза и фолликулярных клеток яичника (рис. 22.24). Получив информацию о том, что брачный сезон уже начался, гипоталамус секретирует рилизинг-фактор гонадотропного гормона, воспринимаемый гипофизом. Гипофиз отвечает выделением гонадотропинов в кровь. Эти последние стимулируют фолликулярные клетки к секреции эстрогена, а эстроген инструктирует печень, которая начинает синтезировать и выделять вителлогенин. После стимуляции эстрогеном печеночные клетки резко изменяются (рис. 22.25). Эти изменения обычно наступают во время сезона спаривания, но если эстроген инъектировать взрослым лягушкам (неважно – самцам или самкам) в любое время года, то эти изменения произойдут и будет выделяться вителлогенин (Skipper, Hamilton, 1977).

А. ВИТЕЛЛОГЕНЕЗ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ООЦИТА



Б. СОЗРЕВАНИЕ ЯЙЦА И ОВУЛЯЦИЯ

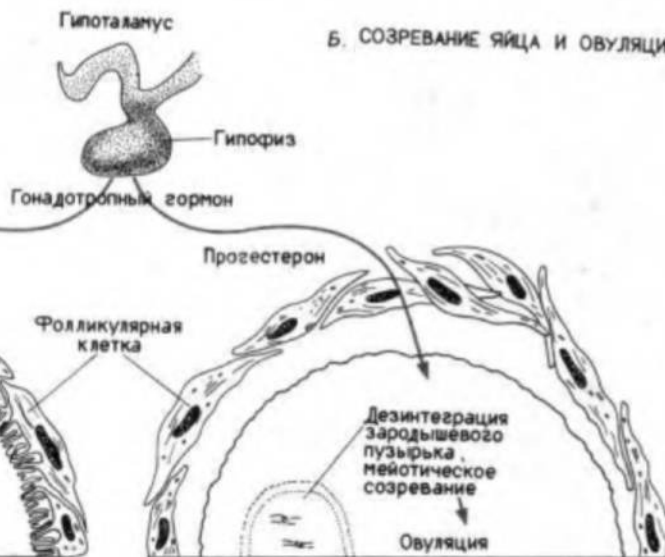
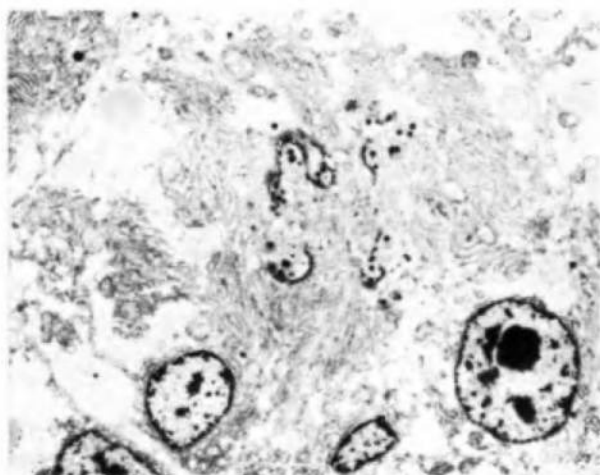


Рис. 22.24. Регуляция роста ооцита и созревания яйца у амфибий, осуществляемая с помощью эстрогена и прогестерона. А. Гонадотропный гормон стимулирует фолликулярные клетки к образованию эстрогена, который заставляет печень секретировать вителлогенин. Этот белок поглощается ооцитом. Б. После вителлогенеза под действием того же гонадотропного гормона фолликулярные клетки секретируют прогестерон. За 6 ч стимуляции прогестероном зародышевый пузырек дезинтегрируется, что служит началом событий, ведущих к овуляции. (По Browder, 1980.)



А



Б

Рис. 22.25. Действие эстрогена (эстрадиола) на ультраструктуру печеночных клеток *Xenopus laevis*. А. Гепатоциты до инъекции эстрогена. Б. После инъекции эстрогена в гепатоцитах наблюдается мощное развитие гранулярного эндоплазматического ретикула и аппарата Гольджи, необходимых для синтеза и секреции вителлогенина. (Из Skipper, Hamilton, 1977; фотографии с любезного разрешения авторов.)

Эстроген индуцирует вителлогенин и на уровне транскрипции, и на уровне трансляции. Перед выделением эстрогена в печени не выявляются мРНК вителлогенина. После введения гормона каждая клетка содержит около 50 000 молекул вителлогениновой мРНК, что составляет примерно половину общей клеточной мРНК. Транскрипционная активация генов вителлогенина в норме дала бы не более 1500 таких молекул мРНК на клетку. Кроме того, эстроген также специфически стабилизирует эти матрицы, каким-то образом продлевая время их полужизни с 16 ч до 3 нед. Поскольку этот эффект отмечен в отсутствие синтеза новых белков, он представляется прямым следствием воздействия эстрогена. Таким образом, эстроген контролирует накопление вителлогенина путем транскрипционной и трансляционной регуляции генов (Brock, Shapiro, 1983).

Блокирование мейоза и выход из блока

Ооциты амфибий могут годами оставаться на диплотной стадии профазы мейоза. Для возобновления мейоза первичному ооциту амфибий требуется прогестерон. Этот гормон секретируется фолликулярными клетками в ответ на гонадотропные гормоны, выделяемые гипофизом. В течение 6 ч после стимуляции прогестероном происходит дезинтеграция зародышевого пузырька (ДИЗП), исчезновение микроворсинок, дезинтеграция ядрышек, сокращение и миграция хромосом типа ламповых щеток к анимальному полюсу, чтобы там разделиться. Вскоре после этого происходит первое деле-

ние мейоза, и зрелое яйцо выделяется из яичника в ходе процесса, называемого **овуляцией**. Овулировавшее яйцо находится в метафазе второго деления мейоза.

Каким образом прогестерон побуждает яйцо выйти из состояния покоя и возобновить мейоз? Чтобы понять механизм этой активации, необходимо кратко остановиться на модели деления ранних бластомеров, представленной в гл. 3. За возобновление мейоза отвечает фактор, стимулирующий созревание (ФСС). Он характеризуется циклической активностью, которая наиболее высока во время деления клетки и не выявляется в интерфазе. ФСС представляет собой протеинкиназу, регулируемую белком циклином. Трансляция циклина происходит во время интерфазы, а по окончании деления клетки он быстро разрушается. Циклин активирует ФСС. Если по окончании деления клетки циклин не разрушается, то ФСС сохраняет свою активность, и клетка блокируется в метафазе. Как только циклин разрушится, ФСС становится неактивным, и клетка возвращается в интерфазу. Масуи (Masui, 1974) обнаружил, что цитоплазма овулировавшего яйца амфибий может вызывать задержку деления других клеток в метафазе. Этот автор пришел к заключению, что цитоплазма овулировавших яиц содержит **цитостатический фактор (CSF)**, блокирующий деление клетки в метафазе.

Цитостатический фактор сравнительно недавно был выделен. Результаты, полученные в работе Сагаты и др. (Sagata et al., 1988), свидетельствуют о том, что прогестерон стимулирует мейоз благодаря тому, что вынуждает ооцит транслировать осо-

А. БЛОКИРОВАНИЕ ООЦИТА ЛЯГУШКИ НА СТАДИИ МЕТАФАЗЫ



Б. СНЯТИЕ БЛОКА МЕЙОЗА ПРИ ОПЛОДОТВОРЕНИИ



Рис. 22.26. Гипотетическая модель регуляции блока мейоза в ооцитах лягушки и выхода из блока при оплодотворении. А. Во время метафазы мейоза прогестерон индуцирует трансляцию белка $pp39^{mos}$ (правая часть схемы). Это инактивирует протеазу циклина, что предотвращает деградацию циклина. Циклин остается связанным с белком $cdc-2$, и ФСС сохраняет активность. В результате клетка задерживается в метафазе. Б. При оплодотворении высвобождаются ионы кальция, активирующие кальпен II – протеазу, специфически расщепляющую $pp39^{mos}$. Деградация $pp39^{mos}$ приводит к тому, что протеаза циклина активируется М-фосфатазой. Следствием этой активации оказывается деградация циклина и инактивация ФСС. Клетка возвращается в интерфазу. Таким образом, представляется вероятным, что клеточная регуляция осуществляется по плану Руба Гольдберга. (По Hunt, 1989.)

бую материнскую мРНК, хранящуюся в цитоплазме. Эта запасенная матрица кодируется протоонкогеном mos^1 и транслируется в фосфопротеин $pp39^{mos}$ с молекулярной массой 39 000 дальтон. Этот белок выявляется только при созревании ооцита и быстро разрушается после оплодотворения. За это краткое время своего существования он выполняет важнейшую роль в пробуждении яйца. Если трансляцию $pp39^{mos}$ ингибировать (инъекцировав в ооцит бессмысловую мРНК mos), то $pp39^{mos}$ не образуется, дезинтеграции зародышевого пузырька не происходит и процесс созревания ооцита не возобновляется. Сти-

мулировав реинициацию мейоза, он затем удерживает хромосомы в метафазе до оплодотворения. В последующих экспериментах было показано, что если в один из двух первых бластомеров только что разделившегося яйца лягушки инъектировать мРНК $c-mos$, то инъектированный бластомер приостановит митоз на стадии метафазы (Sagata et al., 1989). Более того, если антитела к белку $pp39^{mos}$ инкубировали с гомогенатами яиц лягушки, то эти гомогенаты утрачивали свою CSF-активность. Следовательно, CSF – это, по всей вероятности, короткоживущий белок $pp39^{mos}$.

Следующий вопрос касается механизма, с помощью которого $pp39^{mos}$ и циклин вызывают возобновление мейоза и его остановку в метафазе.

¹ У *Xenopus* это клеточный гомолог вирусного онкогена вируса мышиной саркомы Молони – $v-mos$ (гл. 20).

Основное теоретическое предположение заключается в том, что белок $pp39^{mos}$ действует посредством ингибирования деградации циклинового компонента ФСС. Полагают, что это осуществляется посредством фосфорилирования специфической протеазы, которая в противном случае вызвала бы деградацию циклина. Если циклин не будет деградирован, то ФСС стабилизируется (рис. 22.26). В результате клетка вступает в метафазу, и до тех пор пока ФСС не будет разрушен, она останется в метафазе.

Деградация ФСС происходит при оплодотворении и связана с деградацией белка $pp39^{mos}$. Но каким образом последний деградирует при оплодотворении? По-видимому, это происходит в результате активации протеазы, специфически расщепляющей $pp39^{mos}$ (Watanabe et al., 1989). Во время оплодотворения из эндоплазматического ретикулаума высвобождаются ионы кальция, активирующие Ca^{2+} -зависимую протеазу кальпен II, которая специфически воздействует на $pp39^{mos}$. На рис. 22.27 показано увеличение концентрации $pp39^{mos}$ после получения прогестерона и ее быстрое снижение при активации кальпена II. Так, полагают, происходит возобновление мейоза под действием прогестерона и завершение его при оплодотворении.

Транскрипция генов в ооцитах

Изменения в транскрипции генов ооцита мы уже обсуждали (см. гл. 11 и 12). Характер транскрипции рРНК и тРНК представлен на рис. 22.28. Транс-

крипция начинается в раннем (стадия I; 25–40 мкм) ооците на стадии диплотеи мейоза. В это время транскрибируются все рибосомные и транспортные РНК, необходимые для синтеза белка вплоть до наступления стадии средней бластулы, а также вся материнская мРНК, предназначенная для раннего развития зародыша. У *Xenopus* эта стадия длится месяцами. По достижении определенных размеров хромосомы зрелого (стадия VI) ооцита конденсируются, и активная транскрипция прекращается. Состояние «зрелого ооцита» также продолжается месяцами. После гормональной стимуляции первое деление мейоза завершается, и происходит овуляция. мРНК, запасенные ооцитом, соединяются с рибосомами для инициации синтеза белка. В течение нескольких часов начинается второе деление мейоза, и происходит оплодотворение вторичного ооцита. Активная транскрипция генов не начинается до стадии средней бластулы (Davidson, 1986).

В отличие от ситуации у морских ежей, размеры и сложность ооцитных популяций мРНК у которых возрастают по мере созревания ооцита (Hough-Evans et al., 1977), размеры и сложность ооцитных популяций мРНК у лягушки остаются относительно постоянными (Perlman, Rosbash, 1978; Dolecki, Smith, 1979). Увеличение размеров, по-видимому, сбалансировано процессом деградации даже на стадии ламповых щеток. Кроме того, прогестерон инициирует в цитоплазме ооцита трансляцию запасенных мРНК. Итак, если у морского ежа трансляция материнских матриц инициируется оплодотворением,

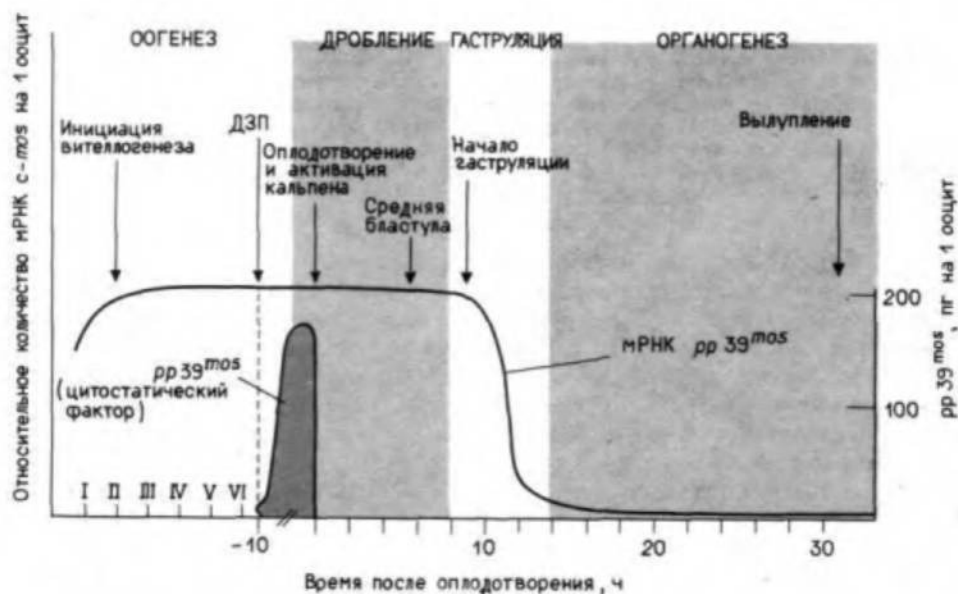


Рис. 22.27. Экспрессия мРНК *c-mos*, $pp39^{mos}$ и кальпена II в ходе раннего развития *Xenopus laevis*. (По Watanabe et al., 1989.)

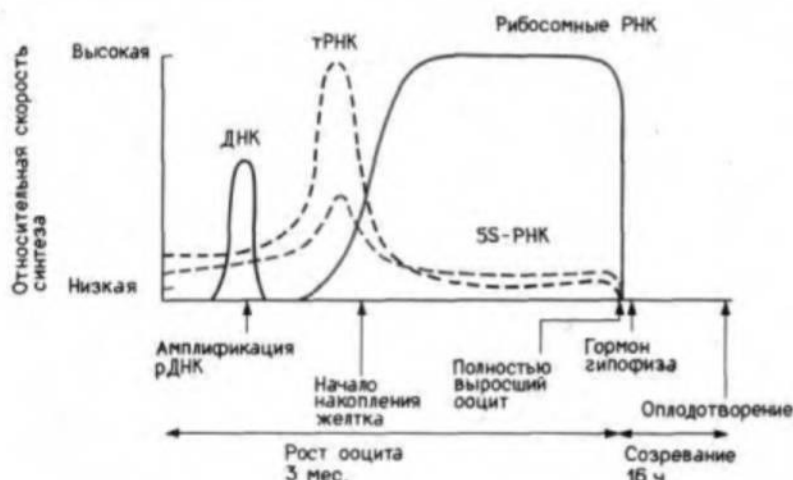


Рис. 22.28. Относительные скорости синтеза ДНК, тРНК и рибосомных РНК во время оогенеза у амфибий в течение последних трех месяцев перед овуляцией. (Из Gurdon, 1976.)

ем, то у лягушки эта трансляция инициируется прогестероном незадолго до овуляции.

Было показано (Fox et al., 1989), что, как и в случае некоторых сперматических матриц, некоторые мРНК ооцита лягушки могут быть активированы путем добавления поли(А)-остатков к их 3'-концам. Вскоре после индуцированного прогестероном разрушения зародышевого пузырька набор цитоплазматических мРНК получает фрагменты поли(А) длиной от 50 до 300 оснований. Затем эти матрицы транслируются и деградируют. Сигнал к присоединению поли(А) представляет собой а) добавление канонической последовательности поли(А) ААУААА и б) специфическую последовательность УУУУУАУ в нетранслируемой 3'-области. Эта последовательность может сообщить любой матрице способность стать полиаденилированной и транслироваться при созревании ооцита, индуцированном прогестероном. Подобная ситуация может иметь место и при созревании яиц млекопитающих. Матрица для активатора плазминогена — протеазы, вероятно обуславливающей высвобождение яйца млекопитающих при овуляции, — сохраняется в нетранслируемом состоянии у первичных ооцитов с заблокированным мейозом. При возобновлении мейоза 3'-конец этой мРНК полиаденилируется и матрица начинает транслироваться (Vassalli et al., 1989).

Мероистический оогенез у насекомых

Для некоторых насекомых характерен **мероистический** оогенез, при котором между клетками, продуцируемыми оогонием, сохраняются цитоплазматические мостики. У *Drosophila* каждый оогоний в результате четырех делений дает клон из 16 клеток, связанных друг с другом **кольцевыми каналами**. Образование таких взаимосвязанных клеток

(называемых **цистоцитами**) предполагает высокую степень упорядоченности клеточных делений (рис. 22.29). Превратиться в ооцит могут только две клетки, а именно те, которые имеют четыре цитоплазматических мостика; однако и из этих двух клеток в ооцит превращается лишь одна, в другой мейоз начинается, но до конца не доходит. Таким образом, из 16 цистоцитов яйцом становится только один. Все остальные клетки превращаются в **питающие**. Будущим ооцитом оказывается клетка, занимающая задний конец яйцевой камеры, в которой заключен 16-клеточный клон.

Ооциты мероистических насекомых не проходят стадии активной транскрипции, и у них не образуются хромосомы типа ламповых щеток. Данные радиоавтографии свидетельствуют о том, что синтез РНК происходит главным образом в питающих клетках, из которых она активно транспортируется в цитоплазму ооцита. Это можно видеть на рис. 22.30. Если яйцевые камеры комнатной мухи инкубировать с радиоактивным цитидином, то ядра питающих клеток будут интенсивно включать метку. После переноса клеток на нерадиоактивную среду и последующей инкубации их в этой среде в течение 5 ч можно наблюдать, как меченая РНК из питающих клеток переходит в ооцит (Bier, 1963). Оогенез длится всего лишь 12 сут, следовательно, в это время питающие клетки должны иметь очень высокую метаболическую активность. Их транскрипционная эффективность достигается благодаря тому, что они становятся политенными. Вместо двух копий каждой хромосомы в результате последовательных репликаций образуется 512 копий. Известно, что из 15 питающих клеток в цитоплазму ооцита поступает и матричная, и рибосомная РНК, а также целые рибосомы. мРНК не связываются с полисомами, а это предполагает, что они не

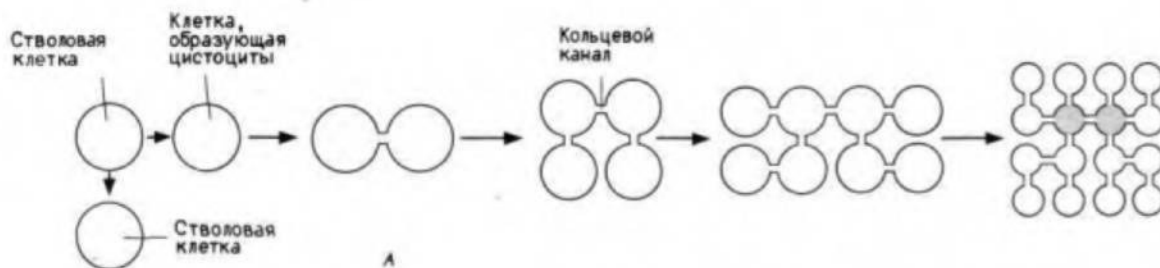


Рис. 22.29. Формирование 16 взаимосвязанных цистодитов у *Drosophila*. А. Клетки представлены схематически так, как если бы они делились в одной плоскости. Стволовая клетка делится с образованием другой стволовой клетки и клетки, коммитированной к образованию цистодитов. Только один из 16 цистодитов станет ооцитом, другие будут питающими клетками, соединенными с ооцитом кольцевыми каналами (цитоплазматическими мостиками). Б. Трехмерное изображение ооцита и 15 питающих его клеток. (А — по Koch et al., 1967.)



Рис. 22.30. Транспорт мРНК из питающих клеток в ооциты мухи. А–Б. Радиоавтографы фолликулярной клетки комнатной мухи (*Musca domestica*) после инкубации с ^3H -птитидином. А. Яйцевая камера, фиксированная сразу после введения метки. Ядра питающих клеток интенсивно метятся, что свидетельствует о синтезе в них новой РНК. Ооцит остается немеченым, за исключением того места, куда через цитоплазматический мостик (стрелка) попадает некоторое количество РНК из питающей клетки. Б. Такая же яйцевая камера, фиксированная спустя 5 ч. Метка вышла из ядер питающих клеток в цитоплазму. Более того, можно видеть, что радиоактивная РНК проходит в цитоплазму ооцита через два канала между ооцитом и питающими клетками. В. Радиоавтограф яйцевой камеры *Drosophila* (стрелка), окрашенной радиоактивным зондом к мРНК гена *bicoid*. Эта матрица транспортируется из питающей клетки (слева) и остается на переднем конце ооцита (меньший более темный овал). (А, Б — из Bier, 1963; с любезного разрешения D. Ribbert; В — из Stephanson et al., 1988; с любезного разрешения E. C. Stephanson.)

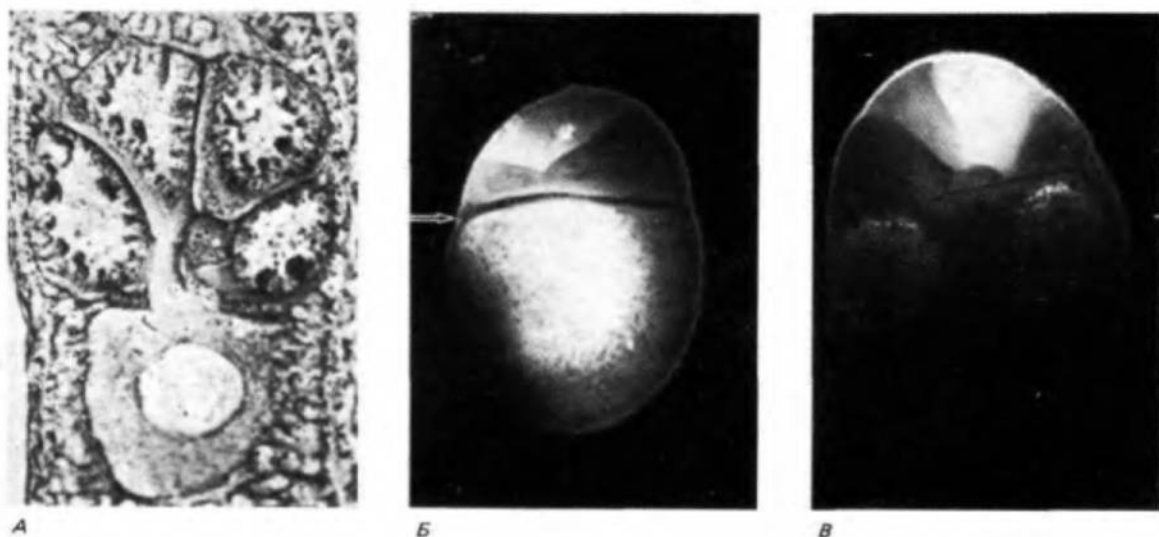


Рис. 22.31. Направленное перемещение макромолекул в клетках яйцевой камеры. А. Яйцевая камера бабочки *Hyalophora cecropia* с ооцитом и четырьмя питающими клетками. Срез прошел так, что виден мостик, соединяющий одну из питающих клеток с ооцитом. Б. Флуоресцентная микрофотография ранней вителлогенной яйцевой камеры, фиксированной через 1 ч после того, как в одну из питающих клеток был инъецирован метилкарбокситированный и меченный флуоресцентным лизоцим. Модифицированный таким образом белок проходит через межклеточный мостик в ооцит (стрелка). В. То же самое, что и на Б, но в питающую клетку была инъецирована основная форма меченого флуоресцентного лизоцима (неметилкарбокситированная). Белок в ооцит не транспортируется. (Из Telfer et al., 1981; фотографии с любезного разрешения W. H. Telfer.)

принимают немедленного участия в синтезе белка (Paglia et al., 1976; Telfer et al., 1981).

Мероистический яичник ставит нас перед рядом интересных проблем. Если все его клетки соединены таким образом, что белки и РНК могут свободно перемещаться между ними, то чем объяснить их различную судьбу в ходе развития? Почему одна клетка должна стать ооцитом, а другие — «синтезирующими РНК фабриками»? Почему поток белков и РНК происходит лишь в одном направлении? Один из возможных ответов на эти вопросы заключается в том, что в яйцевой камере существует электрический градиент, препятствующий диффузии одних молекул и облегчающий диффузию других. Некоторыми авторами (Woodruff, Telfer, 1980; Woodruff R. I. et al., 1988) было показано, что такой градиент действительно существует и что он ингибирует движение большей части белков, облегчая направленное движение кислых макромолекул. Такой «электрофорез *in vivo*» представлен на рис. 22.31. Если в кислый фермент ввести флуоресцирующую метку и инъецировать этот фермент в питающие клетки, то можно видеть, что белок мигрирует из питающей клетки в цитоплазму ооцита. Но если тот же самый меченый белок посредством небольших химических модификаций сделать основным, то он останется в той питающей клетке, в которую был инъецирован. Таким образом, свободного обмена регуляторными молекулами между

взаимосвязанными клетками не происходит, а некоторые белки и нуклеиновые кислоты характеризуются односторонним транспортом.

Три основных желточных белка дрозофилы образуются не в ооците, а в жировом теле и яичнике (Bowman, 1962; Brennen et al., 1982). Известно, что гормональный контроль над синтезом желтка осуществляется ювенильным гормоном экдизоном и нейросекреторным гормоном мозга. Полагают, что гормон мозга в ответ на сигнал со стороны среды обитания¹ стимулирует *corpora allata* к секреции ювенильного гормона (рис. 22.32). Ювенильный гормон 1) регулирует поглощение желточных пептидов на поверхности ооцита; 2) стимулирует синтез белков желтка в яичнике (последние идентичны тем, которые образуются в жировом теле) и 3) заставляет фолликулы яичника и другие абдоминальные

¹ Таким сигналом для *Drosophila* служит, по-видимому, фотопериод. Для обычного комара — это насыщение кровью жертвы. Кусаются только самки комара, которые не производят вителлогенина, пока не примут определенную дозу пищи. Некий фактор крови стимулирует мозг комара к высвобождению ювенильного гормона и фактора, стимулирующего *corpus cardiacum*. Этот последний фактор вызывает выделение нейросекреторного гормона, регулирующего развитие яича (НГРЯ). НГРЯ стимулирует яичник к секреции экдизона, который совместно с ювенильным гормоном заставляет жировое тело синтезировать вителлогенин (Hagedorn, 1983; Borovsk et al., 1990).



Рис. 22.32. Схема гормональной регуляции синтеза белков желтка у *Drosophila melanogaster*. В ответ на гормон, выделяемый мозгом, прилежащие тела (*corpore allata*) продуцируют ювенильный гормон (ЮГ), который стимулирует яичник к синтезу белков желтка и экдистероидов. Кроме того, ЮГ индуцирует экдистероидный синтез в абдоминальных клетках. Экдистероиды стимулируют жировое тело к синтезу белков желтка, которые транспортируются в яичник. (По Bownes, 1982.)

клетки секретировать экдизон. Экдизон, превращаясь в активную форму – 20-гидроксиэкдизон, – стимулирует жировое тело к образованию белков желтка точно так же и с тем же результатом, что эстрадиол, стимулирующий печень у амфибий. Сходным образом введение экдизона взрослым самцам приводит к тому, что в их жировых телах будут секретироваться белки желтка (Postlethwait et al., 1980). Хотя желток в яйцах дрозофилы занимает центральное положение, для них также характерна полярность. Как уже обсуждалось ранее (гл. 7 и 18), переднезадняя ось зародыша создается распределением материнских продуктов в цитоплазме ооцита. Например, ген *bicoid* должен экспрессироваться у матери для того, чтобы ее потомство имело головы. (У потомства, полученного от матерей, не имеющих этого гена, на обоих концах развиваются хвосты.) Ген *bicoid* транскрибируется в ходе оогенеза питающими клетками и его мРНК накапливается на переднем конце ооцита (рис. 22.30, В; Frigerio et al., 1986; Stephanson et al., 1988). Утечка некоторого количества цитоплазмы из переднего конца яиц дикого типа

приводит к развитию зародышей с редуцированными головными структурами.

Приняв факт существования такой полярности у яиц *Drosophila*, мы останавливаемся перед следующими вопросами: каким образом поддерживается эта полярность? Что препятствует матрицам *bicoid* диффундировать по всему ооциту? Что заставляет компоненты полярных гранул локализоваться у заднего конца? В *bicoid*-мРНК присутствует компонент *cis*-бикоидной локализации. По-видимому, *bicoid*-мРНК связывается с передними компонентами яйца посредством своей 3'-нетранслируемой области. Этот конец матрицы путем спаривания оснований замыкается на себя с образованием характерной вторичной структуры. Если эту последовательность придать другим мРНК, то они также будут локализованы на переднем полюсе яйца *Drosophila* (MacDonald, 1990).

Кроме того, было показано (Fröhnhöfer, Nüsslein-Volhard, 1987; Manseau, Schübach, 1989), что два других материнских гена – *swallow* и *exuperantia* – необходимы для удержания *bicoid*-мРНК у переднего полюса, а полярные гранулы – у заднего. Эти гены отвечают за *trans*-компоненты бикоидной локализации. У яиц, образованных матерями, несущими любую из этих мутаций, *bicoid*-мРНК смещаются ближе к заднему концу яйца, а продукт гена *vasa* – компонент полярных гранул – не локализуется у заднего конца. Яичник *Drosophila* должен не только производить цитоплазматически поляризованный продукт, но и синтезировать некоторые компоненты ооцита, обеспечивающие эту полярность.

Оогенез у человека

Созревание яиц и овуляция у млекопитающих следуют по одному из двух основных путей в зависимости от вида животного. Овуляция первого типа стимулируется самим физическим актом спаривания. Физическое раздражение шейки матки вызывает выделение гонадотропинов из гипофиза. Эти гонадотропины служат сигналом для яиц, которые в ответ на него возобновляют мейоз и инициируют события, ведущие к выделению яйца из яичника. Такой способ гарантирует то, что большая часть копуляций завершится оплодотворением яйца, а животные, для которых характерен этот способ овуляции – кролики и норки, – известны своим замечательным репродуктивным успехом.

У большинства млекопитающих, однако, овуляция характеризуется периодичностью, т. е. происходит лишь в определенное время года; этот период называют **эструсом** (или «охотой»). Определенные факторы среды – обычно интенсивность и характер освещенности в течение дня – служат сигналом для гипоталамуса, который выделяет рилизинг-фактор

гонадотропинов. Этот фактор стимулирует гипофиз к секреции гонадотропинов – фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и лютеинизирующего гормона (ЛГ). Гонадотропины обеспечивают пролиферацию фолликулярных клеток и секрецию эстрогена. Эстроген в свою очередь связывается с определенными нейронами, вызывая комплекс реакций брачного поведения, характерного для вида. Гонадотропины стимулируют также рост фолликула и инициируют овуляцию. Таким образом, эструс и овуляция происходят почти одновременно.

Овуляция у человека – это один из вариантов периодической овуляции. И хотя у женщин происходит циклическая овуляция (цикл составляет в среднем около 29,5 дней) без эструса, приуроченного к определенному сезону, репродуктивная физиология человека имеет много общего с другими приматами. Характерный для приматов периодический цикл в созревании и выделении яйцеклетки называется **менструальным циклом**, завершающимся выделением из матки крови и клеточного дебриса. Менструальный цикл представляет собой интеграцию

трех очень различных событий: 1) овариального цикла, связанного с созреванием и выделением ооцита; 2) маточного цикла, функция которого заключается в обеспечении необходимых условий для имплантации бластоцисты и 3) цервикального цикла, функция которого связана с обеспечением условий, позволяющих спермиям проникнуть в женский половой путь только в определенное время. Все эти три функции интегрированы посредством гормонов гипофиза, гипоталамуса и яичника.

Большая часть ооцитов в зрелом яичнике женщины блокирована на чрезвычайно продолжительной стадии диплотены профазы первого деления мейоза (часто называемой **диктиотной стадией**). Каждый ооцит заключен в **первичном фолликуле**, состоящем из одного слоя эпителиальных **клеток гранулезы** и менее организованного слоя мезенхимных **клеток теки** (рис. 22.33). Периодически та или иная группа первичных фолликулов вступает в стадию фолликулярного роста. За время этой стадии объем ооцита увеличивается в 500 раз (что соответствует увеличению его диаметра от 10 мкм у пер-

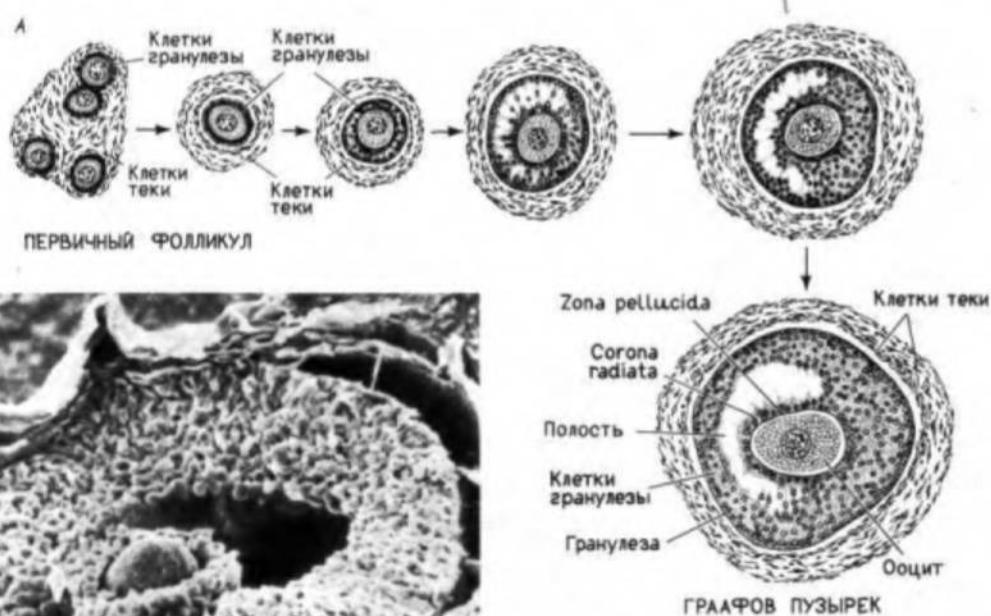


Рис. 22.33. Овариальный фолликул млекопитающих. А. Созревание овариального фолликула. Зрелый фолликул обычно называют граафовым пузырьком. Б. Микрофотография зрелого фолликула крысы, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа. Ооцит (в центре) окружен более мелкими клетками гранулезы, которые будут образовывать corona radiata. (А – по Carlson, 1981; Б – с любезного разрешения Р. Bagavandoss.)

вичного фолликула до 80 мкм у полностью сформированного фолликула). Рост ооцита сопровождается увеличением числа клеток гранулезы фолликула, образующих вокруг ооцита концентрические слои. В течение всего этого периода роста ооцит остается заблокированным на диктиотной стадии. Завершивший рост фолликул содержит, таким образом, крупный ооцит, окруженный несколькими слоями клеток гранулезы. Многие из них сохраняются на овулировавшей яйцеклетке, где образуют **кумуляус**, окружающий яйцо в яйцевом. Кроме того, в процессе роста фолликула формируется **антрум** (полость), которая заполняется смесью белков, гормонов, цАМФ и других молекул. В любой данный момент созревает небольшая группа фолликулов. Однако по прошествии некоторого периода развития большая часть ооцитов вместе с заключающими их фолликулами погибает. Для того чтобы выжить, фолликул должен иметь источник гонадотропных гормонов — оказавшись «на волне», он должен удержаться на ее гребне. Иначе говоря, для того чтобы произошло созревание ооцита, фолликулы должны находиться

на определенной стадии развития к тому времени, когда поднимется волна гонадотропина.

День 1 менструального цикла считается первым днем «кровотечения» (рис. 22.34). Это кровотечение из влагалища представляет собой отторжение поверхностной ткани и кровеносных сосудов матки, которые должны были способствовать имплантации бластоцисты. Во время первой части цикла (называемой **пролиферативной** или **фолликулярной** фазой) гипофиз начинает секретировать все возрастающие количества ФСГ. Группа созревающих фолликулов, которая уже прошла определенный путь развития, отвечает на гормон дальнейшим ростом и пролиферацией клеток. Кроме того, ФСГ индуцирует образование рецепторов ЛГ на клетках гранулезы. Вскоре после периода начального роста фолликула в гипофизе начинается секреция ЛГ, который снимает блок мейоза. Ядерные мембраны компетентных ооцитов дезинтегрируются, и ансамбли хромосом вступают в первое деление мейоза. Один из наборов хромосом остается внутри ооцита, а другой попадает в небольшое полярное тельце. Оба остаются

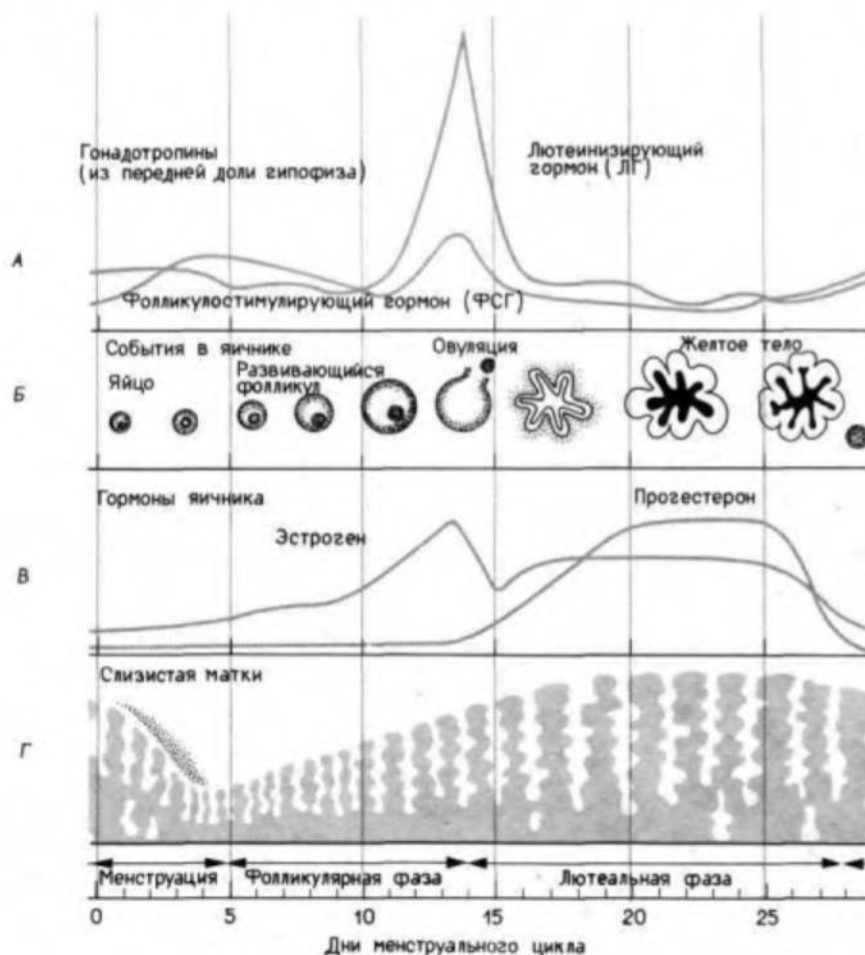


Рис. 22.34. Менструальный цикл человека. Циклы овариальный (Б) и маточный (Г) координируются гормонами гипофиза (А) и яичника (В). Во время фолликулярной фазы происходит созревание яйцеклетки внутри фолликула, а слизистая матки подготавливается к восприятию зародыша. Зрелое яйцо высвобождается примерно на четырнадцатые сутки. Если яйцеклетка не имплантируется, то начинается процесс отторжения стенки матки, ведущий к менструации.

в пределах блестящей оболочки (*zona pellucida*), синтезированной растущим ооцитом. Именно на этой стадии происходит овуляция.

Оба гонадотропина, действуя совместно, стимулируют фолликулярные клетки к синтезу все возрастающих количеств эстрогена, который регулирует дальнейший ход менструального цикла, выполняя при этом по меньшей мере пять основных функций.

1. Он вызывает пролиферацию слизистой матки и обогащение ее кровеносными сосудами.
2. Он разжижает слизь шейки матки, облегчая проникновение спермиев в глубь половых путей.
3. Он стимулирует увеличение числа рецепторов ФСГ на клетках гранулы фолликула (Kamterman, Ross, 1975), в то же время заставляя гипофиз снизить продукцию ФСГ. Помимо этого, он стимулирует клетки гранулы к секреции пептидного гормона ингибина, который также подавляет секрецию ФСГ гипофизом (River et al., 1986; Woodruff et al., 1988).
4. В низких концентрациях он ингибирует образование ЛГ, а в высоких — стимулирует его.
5. В очень высоких концентрациях и при длительном воздействии эстроген взаимодействует с гипоталамусом, заставляя его секретировать рилизинг-фактор гонадотропинов.

Таким образом, по мере того как в результате активности фолликулов повышается уровень эстрогена, уровень ФСГ снижается. Пока синтезируется эстроген (дни 7–10), клетки гранулы продолжают расти. Начиная с дня 10 секреция эстрогена резко повышается. Это повышение сопровождается в середине цикла исключительно высоким всплеском выделения ЛГ и меньшим подъемом синтеза ФСГ. Результаты экспериментов на самках обезьян показали, что воздействие на гипоталамус эстрогена в дозах, превышающих $200 \text{ пг} \cdot \text{мл}^{-1}$ крови дольше 50 ч приводит к секреции гипоталамусом рилизинг-фактора гонадотропинов. Этот фактор в свою очередь стимулирует выделение гипофизом ФСГ и ЛГ. В течение 10–12 ч после пика секреции гонадотропинов яйцеклетка овулирует (рис. 22.35; Garcia et al., 1981). Механизм овуляции до сих пор изучен недостаточно хорошо, однако можно полагать, что физический выход зрелого ооцита из фолликула происходит в результате индуцированного ЛГ повышения содержания коллагеназы, активатора плазминогена и простагландина внутри фолликула (Lemaire et al., 1973). мРНК активатора плазминогена хранится в неактивной форме в цитоплазме ооцита. ЛГ вызывает полиаденилирование этой матрицы и трансляцию ее в активную протеазу (Huarte et al., 1987). Простагландины могут вызывать локальное сокращение гладких мышц яичника и увеличивать

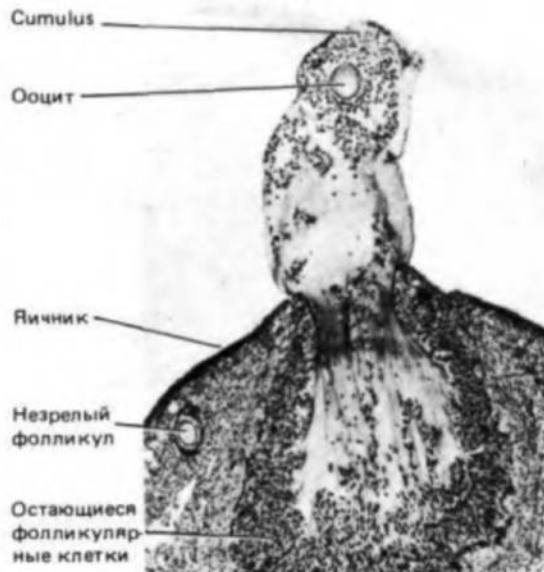


Рис. 22.35. Овуляция у кролика. Овуляцию наблюдали в обнаженном яичнике живого анестезированного кролика. В момент когда фолликул начал овулировать, яичник был удален, зафиксирован и окрашен. (Фотография с любезного разрешения J. Blandau.)

отток воды из овариальных капилляров (Diaz-Infante et al., 1974; Koos, Clark, 1982). Если синтез овариального простагландина ингибирован, то овуляции не происходит. В дополнение к индуцированному простагландином давлению коллагеназы и протеазы активатора плазминогена разрушают и переваривают внеклеточный матрикс фолликула (Beers et al., 1975; Downs, Longo, 1983). Результатом действия лютеинизирующего гормона, таким образом, оказывается повышение давления внутри фолликула, что сопровождается разрушением его стенки. Через образовавшееся отверстие яйцо выпадает в полость тела.

После овуляции начинается **лютеальная фаза** менструального цикла. Клеточная масса, оставшаяся от лопнувшего фолликула, под влиянием постоянно выделяющегося ЛГ становится **желтым телом**. (Реакция этих клеток на ЛГ объясняется тем, что всплеск синтеза ФСГ стимулирует у них образование дополнительных рецепторов ЛГ.) Желтое тело секретитрует некоторое количество эстрогена, но основной его функцией является синтез **прогестерона**. Этот стероидный гормон с током крови попадает в матку, где довершает работу по подготовке ткани матки к имплантации blastocysts, стимулируя рост стенки матки и ее кровеносных сосудов. Блокирование рецептора прогестерона синтетическим стероидом мифепристоном (Ru 486) приостанавливает утолщение стенки матки и препятствует импланта-

ции blastocysts в стенку матки¹ (Couzin et al., 1986). Кроме того, прогестерон ингибирует образование ФСГ, предотвращая таким образом созревание новых фолликулов и яйцеклеток. (На этом основано использование комбинации эстрогена и

¹ Полагают, что Ru 486 конкурирует с ядерным рецептором прогестерона. В отсутствие прогестерона сайт связывания ДНК на рецепторе «закрыт» белком hsp90. Связывание прогестерона с прогестероновым рецептором вызывает изменения конформации рецептора, высвобождая hsp90 и позволяя связывающему гормон рецептору присоединиться к реагирующим с гормоном элементам генных промоторов и энхансеров. Ru 486 может связаться с прогестероновым сайтом рецептора, но он не вызывает конформационных изменений, высвобождающих hsp90. Вместо этого он препятствует связыванию с этим сайтом прогестерона, следствием чего было бы изменение формы рецептора. В результате прогестероновый рецептор не может связать ДНК, и прогестерон не может оказывать физиологического эффекта (Baulieu, 1989). В Европе Ru 486 получил широкое распространение в качестве альтернативы хирургического аборта (Palka, 1989).

прогестерона в контрацептивных препаратах. До тех пор пока синтез ФСГ ингибирован, не может происходить ни рост новых яйцеклеток, ни их созревание.)

Если оплодотворения не происходит, желтое тело дегенерирует, секреция прогестерона снижается, и ткань с поверхности стенки матки отторгается. Когда уровень сыровоточного прогестерона снизится, возобновляется секреция прогестерона гипофизом и начинается новый цикл. Если же оплодотворение произойдет, то трофобласт начинает секретировать новый гормон — **лютеотропин**, который будет поддерживать желтое тело в состоянии активности и сохранять по-прежнему высокий уровень сыровоточного прогестерона. Таким образом, у человека менструальный цикл обуславливает периодическое созревание яйцеклеток и их овуляцию; кроме того, он дает возможность матке периодически становиться органом, способным обеспечить питание развивающегося организма в течение девяти месяцев.

Дополнительные сведения и гипотезы

Поддержание блока мейоза в ооцитах млекопитающих и выход из блока

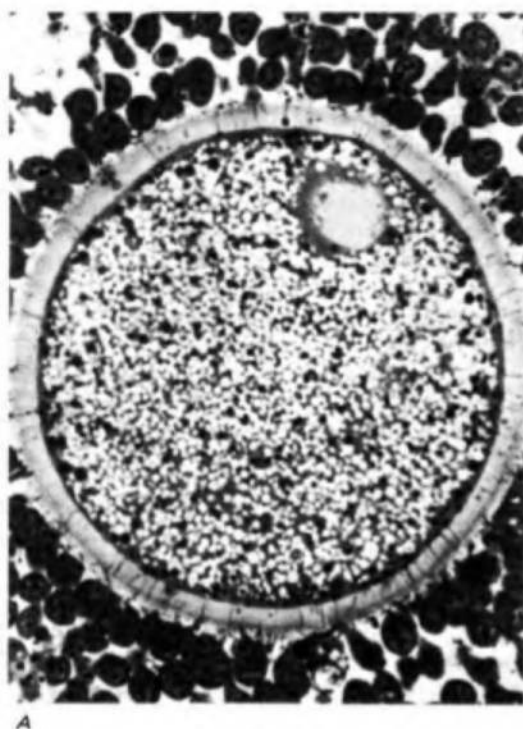
Если секреция фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) создает условия для созревания многочисленных фолликулов, то почему происходит преимущественное развитие всего лишь одного фолликула с единственным ооцитом? Очевидно, что созревать будет именно тот фолликул, который способен продуцировать наибольшее количество эстрогена в ответ на ФСГ, тогда как остальные погибнут. Наборы фолликулов, оказавшиеся под действием ФСГ, начинают не только пролиферировать, но и образуют на клетках теки новые рецепторы лютеинизирующего гормона (рис. 22.36). Рецепция ЛГ заставляет клетки теки секретировать эстроген. Как мы уже видели, последствия повышения количества эстрогена для дальнейшей рецепции ФСГ неоднозначны. Эстроген в одной концентрации снижает секрецию ФСГ гипофизом, тогда как в другой концентрации он стимулирует увеличение числа рецепторов ФСГ на фолликулярных клетках. Таким образом, чем больше эстрогена синтезирует фолликул, тем больше рецепторов ФСГ он получает, — при этом количество ФСГ в кровотоке снижается. По мере снижения концентрации ФСГ остается только один фолликул, способный связывать доступный ФСГ; именно этот фолликул продолжает свой рост, а остальные погибают.

Каким образом ЛГ нарушает мейотический блок? Поиски ответа на этот вопрос привели к ин-

тенсивному изучению природы блока мейоза. Эта (диктиатная) стадия оогенеза чрезвычайно важна, поскольку в это время ооцит растет, в нем дифференцируются специфические структуры и он приобретает способность завершить деления мейоза (So-



Рис. 22.36. Цикл с положительной обратной связью в фолликулярных клетках млекопитающих. Рецепция фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) приводит к образованию все большего количества рецепторов лютеинизирующего гормона (ЛГ). Стимулированные ЛГ фолликулярные клетки секретируют эстроген, который вызывает и увеличение числа рецепторов ФСГ, и снижение гипофизом синтеза ФСГ. В результате лишь немногие фолликулы смогут получать небольшие количества образующегося ФСГ и как следствие этого повысят свою способность получать ЛГ. Эти немногие фолликулы и завершат свое созревание.



А



Б

Ооцит

Рис. 22.37. Коммуникация между ооцитом и клетками гранулезы. А. Ооцит овцы, окруженный zona pellucida и фолликулярными клетками. Отростки клеток гранулезы фолликула пронизывают zona pellucida и контактируют с ооцитом. Б. Электронная микрофотография, на которой видны щелевые контакты между отростками фолликулярной клетки и ооцитом у макака-резуса. Щелевые контакты (обозначены стрелками) окрашены ионами лантана. (А – из Moore, Cran, 1980; фотография с любезного разрешения авторов. Б – из Anderson, Albertini, 1976; фотография с любезного разрешения D. Albertini.)

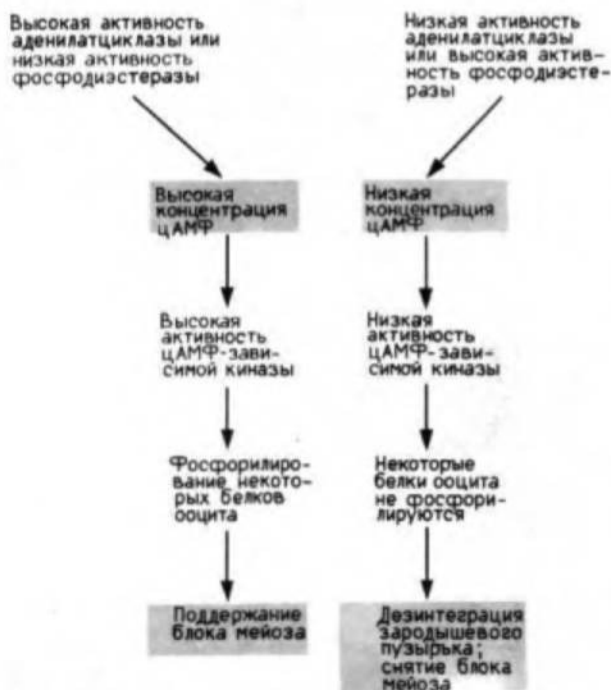


Рис. 22.38. Суммарная сводка предполагаемых событий, объясняющих, каким образом уровень цАМФ ооцита мог бы регулировать завершение мейоза ооцитом. Уровень цАМФ в ооците обусловлен, по крайней мере частично, его поступлением из фолликулярных клеток. Через мембраны

гensen, Wassarman, 1976). Ранние исследования показали, что заключенный в фолликул ооцит (в условиях как *in vivo*, так и *in vitro*) без воздействия гонадотропинов не созревает, тогда как ооцит, извлеченный из фолликула, способен возобновить мейоз даже без гормональной стимуляции (Pincus, Enzmann, 1935).

Отсюда можно заключить, что при нормальном развитии мейоз ингибирован фолликулярными клетками, а его инициация вызывается гонадотропинами. Это предположение о регуляции мейоза фолликулярными клетками подтверждается данными о том, что клетки кумулюса связаны с ооцитом посредством своих отростков, пронизывающих блестящую оболочку, и что эти отростки несут щелевые контакты, позволяющие небольшим молекулам проходить между клетками кумулюса фолликула и ооцитом (рис. 22.37; Anderson, Albertini, 1976; Gilula et al., 1978).

Наблюдения, свидетельствующие о том, что при повышении уровня цАМФ наблюдается ингибирование созревания ооцита (Cho et al., 1974), послужили основанием для предположения, что блок мейоза поддерживается транспортом цАМФ через щелевые

цАМФ пройти не может, но он способен проникать в ооцит по щелевым контактам, соединяющим ооцит с его фолликулярными клетками. При разрушении контактов уровень цАМФ в ооците снижается, что приводит к снятию блока мейоза.

контакты из фолликулярных клеток в ооцит (Dekel, Beers, 1978, 1980). Всплеск синтеза ЛГ мог бы служить триггером созревания, если бы он прерывал коммуникации через щелевые контакты, подавляя таким образом транспорт цАМФ в ооцит. Несколько групп данных подкрепляют эту гипотезу. Во-первых, снижение концентрации цАМФ играет решающую роль для возобновления мейоза. Дезинтеграция зародышевого пузырька может быть предотвращена, если в выделенных из фолликулов яйцеклетках ингибировать разрушение цАМФ или прямо воздействовать на них цАМФ (Bornslaeger et al., 1986). Снижение концентрации цАМФ в ооците происходит непосредственно перед возобновлением мейоза (Schultz et al., 1983). Механизм, посредством которого снижение уровня цАМФ приводит к возобновлению мейоза, неизвестен, но предполагается, что падение уровня цАМФ приводит к снижению концентрации цАМФ-зависимой протеинкиназы. Этот фермент, по-видимому, отвечает за фосфорилирование особых белков, которые в фосфорилированном состоянии поддерживали бы мейотический блок. Если ингибиторы этой протеинкиназы инъецировать в ооциты мыши, то мейоз может возобновиться даже в присутствии цАМФ (рис. 22.38; Bornslaeger et al., 1986).

Во-вторых, гонадотропины, по-видимому, ответственны за нарушение связи между ооцитом и фолликулярными клетками. Последние служат важным источником цАМФ ооцита, поэтому изме-

нения концентрации цАМФ, фолликулярных клеток скажутся на уровне цАМФ ооцита (Racowsky, 1985; Bornslaeger, Schultz, 1985). Этим, наверное, можно объяснить, почему окруженный фолликулярными клетками ооцит находится в состоянии заблокированного мейоза и освобождается от этого блока при удалении фолликулярных клеток.

Всплеск синтеза гонадотропина, однако, может поднять концентрацию цАМФ фолликулярных клеток на новые уровни. В ответ на это повышение зрелые фолликулярные клетки синтезируют гиалуроновую кислоту, которая вызывает физический разрыв контактов между отростками фолликулярных клеток и ооцитом (Erpig, 1979; Larsen et al., 1986). В результате мостики между фолликулярными клетками гранулы и ооцитом, по которым перетекает цАМФ, прерываются, и ооцит млекопитающего возобновляет мейоз (Dekel, Sherizly, 1985; Racowsky, Satterlie, 1985).

Как и ооциты амфибий, овулировавший ооцит мыши заблокирован на метафазе второго деления мейоза и в этом состоянии происходит его оплодотворение. Было показано (Paules et al., 1989), что созревающие ооциты мыши также содержат цитостатический фактор $pp39^{mos}$. Если трансляция гена *c-mos*, ответственного за этот фактор, специфически прервана, то ооцит не выделяет первое полярное тельце и не проходит нормальное созревание. Очевидно, что к созреванию яиц и амфибий, и млекопитающих ведут сходные события.

И яйцо, и спермий обречены на гибель, если они не встретятся. Итак, мы вновь оказались там, откуда начали — подошли к оплодотворению. Как говорил Ф. Р. Лилли в 1919 г.: «Элементы, которые соединяются, представляют собой одиночные клетки, и каждая из них находится на краю гибели, однако в результате соединения этих клеток возникает новая особь, являющаяся очередным звеном в бесконечном процессе Жизни».

ЛИТЕРАТУРА

- Anderson E., Albertini D. F. (1976). Gap junctions between the oocyte and companion follicle cells in the mammalian ovary, *J. Cell Biol.*, **71**, 680–686.
- Auerbach R., Joseph J. (1984). Cell surface markers on endothelial cells: A developmental perspective. In: E. A. Jaffe (ed.). *The Biology of Endothelial Cells*, Nijhoff, The Hague.
- Austin J., Kimble J. (1987). *gfp-1* is required in the germ line for regulation of the decision between mitosis and meiosis in *C. elegans*, *Cell*, **51**, 589–599.
- Baker T. G. (1970). Primordial germ cells. In: C. R. Austin and R. V. Short (eds.), *Reproduction in Mammals*, Vol. 1, *Germ Cells and Fertilization* Cambridge University Press, Cambridge, pp. 1–13.
- Baxter R. (1952). Alkaline phosphates in the primordial germ cells of a 10-mm human embryo, *Int. Anat. Cong.*, Oxford, 17–18.
- Beers W. H., Strickland S., Reich E. (1975). Ovarian plasminogen activator: Relationship to ovulation and hormonal regulation, *Cell*, **6**, 387–394.
- Bennett D., Dunn L. C. (1964). Abnormalities associated with a chromosome region of the mouse, *Science*, **144**, 260–267.
- Bier K. (1963). Autoradiographische Untersuchungen über die Leistungen des Follikel-epithels und der Nahrungszellen bei der Dotterbildung und Eiweiss-synthese im Fliegenova, *Wilhelm Roux Arch., Entwicklungsmech. Org.*, **154**, 552–575.
- Blanco A. (1980). On the functional significance of LDH-X, *Johns Hopkins Med. J.*, **146**, 231–235.
- Bloom W., Fawcett D. W. (1975). *Textbook of Histology*, 10th Ed. Saunders, Philadelphia.
- Bornslaeger E. A., Mattei P., Schultz R. M. (1986). Involvement of cAMP-dependent protein kinase and protein phosphorylation in regulation of mouse oocyte maturation, *Dev. Biol.*, **114**, 453–462.
- Bornslaeger E. A., Schultz R. M. (1985). Regulation of mouse oocyte maturation: Effect of elevating cumulus cell cAMP on oocyte cAMP levels, *Biol. Reprod.*, **33**, 698–704.
- Bounoure L. (1934). Recherches sur lignée germinale chez la grenouille rousse aux premiers stades au développement, *Ann. Sci. Zool. Ser. 17*, **10**, 67–248.
- Bownes M. (1982). Hormonal and genetic regulation of vitellogenesis in *Drosophila*, *Q. Rev. Biol.*, **57**, 247–274.
- Brennen M. D., Weiner A. J., Goralski T. J., Mahowald A. P. (1982). The follicle cells are a major site of vitellogenin

- synthesis in *Drosophila melanogaster*, *Dev. Biol.*, **89**, 225–236.
- Brock M. L., Shapiro D. J. (1983). Estrogen stabilizes vitellogenin mRNA against cytoplasmic degradation, *Cell*, **34**, 207–214.
- Browder L. (1980). *Developmental Biology*, Saunders, Philadelphia.
- Burns R. K., Jr. (1930). The process of sex-transformation parabiostic *Amblystoma*. I. Transformation from female to male, *J. Exp. Zool.*, **55**, 123–169.
- Carlson B. M. (1981). Patten's Foundations of Embryology, 4th Ed., McGraw-Hill, New York.
- Chiquoine A. D. (1954). The identification, origin, and migration of the primordial germ cells in the mouse embryo, *Anat. Rec.*, **118**, 135–146.
- Cho W. K., Stern S., Biggers J. D. (1974). Inhibitory effect of dibutyryl cAMP on mouse oocyte maturation in vitro, *J. Exp. Zool.*, **187**, 383–386.
- Comings D. E. (1968). The rationale for an ordered arrangement of chromatin in the interphase nucleus, *Am. J. Hum. Genet.*, **20**, 440–460.
- Couzinet B. et al. (1986). Termination of early pregnancy by the progesterone antagonist RU 486 (Mifepristone), *N. Eng. J. Med.*, **315**, 1565–1570.
- Danilchik M. V., Gerhart J. C. (1987). Differentiation of the animal-vegetal axis in *Xenopus laevis* oocytes: Polarized intracellular translocation of platelets establishes the yolk gradient, *Dev. Biol.*, **122**, 101–112.
- Davidson E. (1985). *Gene Activity in Early Development*, 3rd Ed., Academic, Orlando, FL.
- Dekel N., Beers W. H. (1978). Rat oocyte maturation in vitro: Relief of cyclic cAMP inhibition by gonadotropins, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **75**, 4369–4373.
- Dekel N., Beers W. H. (1980). Development of the rat oocyte in vitro: Inhibition and induction of maturation in the presence or absence of the cumulus oophorus, *Dev. Biol.*, **75**, 247–254.
- Dekel N., Sherzly I. (1985). Epidermal growth factor induces maturation of rat follicle-enclosed oocytes, *Endocrinology*, **116**, 406–409.
- Diaz-Infante A., Wright K. H., Wallach E. E. (1974). Effects of indomethacin and PGF_{2α} on ovulation and ovarian contraction in the rabbit, *Prostaglandins*, **5**, 567–581.
- Dolecki G. J., Smith L. D. (1979). Poly(A) RNA metabolism during oogenesis in *Xenopus laevis*, *Dev. Biol.*, **69**, 217–236.
- Doniach T., Hodgkin J. (1984). A sex-determining gene, *fem-1*, required for both male and hermaphroditic development in *C. elegans*, *Dev. Biol.*, **106**, 223–235.
- Downs S., Longo F. J. (1983). Prostaglandins and preovulatory follicular maturation in mice, *J. Exp. Zool.*, **228**, 99–108.
- Dubois R. (1969). Le mécanisme d'entrée des cellules germinales primordiales dans le réseau vasculaire, chez l'embryon de poulet, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **21**, 255–270.
- Dumont J. N. (1978). Oogenesis in *Xenopus laevis*. VI. Route of injected tracer transport in follicle and developing oocyte, *J. Exp. Zool.*, **204**, 193–200.
- Dym M. (1977). The male reproductive system. In: L. Weiss and R. O. Greep (eds.), *Histology*, 4th Ed., McGraw-Hill, New York, pp. 979–1038.
- Dym M., Fawcett D. W. (1971). Further observations on the number of spermatogonia, spermatocytes, and spermatids connected by intercellular bridges in the mammalian testis, *Biol. Reprod.*, **4**, 195–215.
- Eppig J. J. (1979). FSH stimulates hyaluronic acid synthesis by oocyte-cumulus cell complexes from mouse preovulatory follicles, *Nature*, **281**, 483–484.
- Eyal-Giladi H., Ginsburg M., Farbarou A. (1981). Avian primordial germ cells are of epiblastic origin, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **65**, 139–147.
- Flickinger R. A., Rounds D. E. (1956). The maternal synthesis of egg yolk proteins as demonstrated by isotopic and serological means, *Biochim. Biophys. Acta*, **22**, 38–72.
- Frigerio D., Burri M., Bopp D., Baumgartner S., Noll M. (1986). Structure of the segmentation gene *paired* and the *Drosophila* PRD gene set as part of a gene network, *Cell*, **47**, 735–746.
- Frohnhofer H. G., Nüsslein-Volhard C. (1987). Maternal genes required for the anterior localization of bicoid activity in the embryo of *Drosophila*, *Genes Dev.*, **1**, 880–890.
- Garcia J. E., Jones G. S., Wright G. L. (1981). Prediction of the time of ovulation, *Fertil. Steril.*, **36**, 308–315.
- Gilula N. B., Epstein M. L., Beers W. H. (1978). Cell-to-cell communication and ovulation. A study of the cumulus-oocyte complex, *J. Cell Biol.*, **78**, 58–75.
- Ginsburg M., Eyal-Giladi H. (1987). Primordial germ cells of the young chick blastoderm originate from the central zone of the area pellucida irrespective of the embryo-forming process, *Development*, **101**, 209–219.
- Grant P. (1953). Phosphate metabolism during oogenesis in *Rana temporaria*, *J. Exp. Zool.*, **124**, 513–543.
- Gurdon J. B. (1976). *The Control of Gene Expression in Animal Development*, Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Hagedorn H. H. (1983). The role of ecdysteroids in the adult insect, In: G. Downer and H. Laufer (eds.), *Endocrinology of Insects*, Alam R. Liss, New York, pp. 241–304.
- Heasman J., Hynes R. D., Swan A. P., Thomas V., Wylie C. C. (1981). Primordial germ cells of *Xenopus* embryos: The role of fibronectin in their adhesion during migration, *Cell*, **27**, 437–447.
- Heasman J., Mohun T., Wylie C. C. (1977). Studies on the locomotion of primordial germ cells from *Xenopus laevis* in vitro, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **42**, 149–162.
- Heath J. K. (1978). Mammalian primordial germ cells, *Dev. Mammals*, **3**, 272–298.
- Hess D. (1973). Local structural variations in the Y chromosome of *Drosophila hydei* and their correlation to genetic activity, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **38**, 663–672.
- Hirsh D., Oppenheim D., Klass M. (1976). Development of the reproductive system of *Caenorhabditis elegans*, *Dev. Biol.*, **49**, 200–219.
- Hodgkin J., Doniach T., Shen M. (1985). The sex determination pathway in the nematode *Caenorhabditis elegans*: Variations on a theme, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **50**, 585–593.
- Hotta Y., Tabata S., Stern H. (1984). Replicating and nicking of zygote DNA sequences: control by a meiosis-specific protein, *Chromosoma*, **90**, 243–253.
- Hotta Y., Tabata S., Stubbs L., Stern H. (1985). Meiosis-specific transcripts of a DNA component replicated during chromosome pairing: Homology across the phylogenetic spectrum, *Cell*, **40**, 785–793.
- Hough-Evans B. R., Wold B. J., Ernst S. G., Britten R. J., Davidson E. H. (1977). Appearance and persistence of maternal RNA sequence in sea urchin development, *Dev. Biol.*, **60**, 258–277.
- Huarte J., Berlin D., Vassalli A., Strickland S., Vassalli J.-D. (1987). Meiotic maturation of mouse oocytes triggers the translation and polyadenylation of dormant tissue-type plasminogen activator mRNA, *Genes Dev.*, **1**, 1201–1208.
- Humphrey R. R. (1931). Studies of sex reversal in *Amblystoma*. III. Transformation of the ovary of *A. tigrinum* into a functional testis through the influence of a testis resident in the same animal, *J. Exp. Zool.*, **58**, 333–365.
- Iatrou K., Spira A., Dixon G. H. (1978). Protamine messenger RNA: Evidence for early synthesis and accumulation during spermatogenesis in rainbow trout, *Dev. Biol.*, **64**, 82–98.
- Ikenishi K., Kotani M. (1979). Ultraviolet effects on presumptive and primordial germ cells (pPGCs) in *Xenopus laevis* after the cleavage stage, *Dev. Biol.*, **69**, 237–246.

- Kammerman S., Ross J. (1975). Increase in numbers of gonadotropin receptors on granulosa cells during follicle maturation. *J. Clin. Endocrinol.*, **41**, 546-550.
- Kimble J.E. (1981). Strategies for control of pattern formation in *Caenorhabditis elegans*. *Philos. Trans. R. Soc. (Lond.) B*, **295**, 539-551.
- Kimble J., Barton M.K., Schedl T.B., Rosenquist T.A., Austin J. (1986). Controls of postembryonic germ line development in *Caenorhabditis elegans*. In: J. Gall (ed.), *Gametogenesis and the Early Embryo*, Alan R. Liss, New York, pp. 97-110.
- Kimble J.E., White J.G. (1981). Control of germ cell development in *Caenorhabditis elegans*. *Dev. Biol.*, **81**, 208-219.
- Klug W.S., King R.C., Wattiaux J.M. (1970). Oogenesis in the suppressor-2 of hairy wing mutant *Drosophila melanogaster*. II. Nucleolar morphology and in vitro studies of RNA and protein synthesis. *J. Exp. Zool.*, **174**, 125-140.
- Kmieć E.B., Holloman W.K. (1984). Synapsis promoted by *Ustilago ree1* protein. *Cell*, **36**, 593-598.
- Koch E.A., Smith P.A., King R.C. (1976). The division and differentiation of *Drosophila* cystocytes. *J. Morphol.*, **121**, 55-70.
- Koos R.D., Clark M.R. (1982). Production of 6-keto-prostaglandin $F_{1\alpha}$ by rat granulosa cells in vitro. *Endocrinology*, **111**, 1513-1518.
- Langman J. (1981). *Medical Embryology*, 4th Ed., Williams and Wilkins, Baltimore.
- Larsen W.J., Wert S.E., Brünner G.D. (1986). A dramatic loss of cumulus cell gap junctions is correlated with germinal vesicle breakdown in rat oocytes. *Dev. Biol.*, **113**, 517-521.
- Laskey R.A. (1974). Biochemical processes in early development. In: A.T. Bull., J.R. Lagnado, J.O. Thomas and K.E. Tipton (eds.), *Companion to Biochemistry*, Vol. 2, Longman, London, pp. 137-160.
- Lemaire W.J., Yang N.S.T., Behram H.H., Marsh J.M. (1973). Preovulatory changes in concentration of prostaglandin in rabbit graafian follicles. *Prostaglandins*, **3**, 367-376.
- Lillie F.R. (1919). *Problems of Fertilization*, University of Chicago Press, Chicago.
- Longo F., Anderson E. (1974). Gametogenesis. In: J. Lash and J.R. Whittaker (eds.), *Concepts of Development*, Sinauer Associates, Sunderland, MA, pp. 3-47.
- McLaren A. (1983). Does the chromosomal sex of a mouse cell affect its development? *Symp. Br. Soc. Dev. Biol.*, **1**, 225-227.
- Marushige K., Dixon G.H. (1969). Developmental changes in chromosome composition and template activity during spermatogenesis in trout testis. *Dev. Biol.*, **19**, 397-414.
- Masui Y., Markert C.L. (1971). Cytoplasmic control of nuclear behavior during meiotic maturation of frog oocytes. *J. Exp. Zool.*, **177**, 129-146.
- Mintz B. (1957). Embryological development of primordial germ cells in the mouse: Influence of a new mutation W.J. *Embryol. Exp. Morphol.*, **5**, 396-403.
- Moens P.B. (1969). The fine structure of meiotic chromosome polarization and pairing in *Locusta migratoria*. *Chromosoma*, **28**, 1-25.
- Moens P.B. (1974). Coincidence of modified crossover distribution with modified synaptonemal complexes. In: R.F. Grell (ed.), *Mechanisms of Recombination*, Plenum, New York, pp. 377-383.
- Moor R.M., Cran D.G. (1980). Intercellular coupling of mammalian oocytes. *Dev. Mammals*, **4**, 3-38.
- Moses M.J. (1968). Synaptonemal complex. *Annu. Rev. Genet.*, **2**, 363-412.
- Paglia L.M., Berry J., Kastern W.H. (1976). Messenger RNA synthesis, transport, and storage in silk-moth ovarian follicles. *Dev. Biol.*, **51**, 173-181.
- Palmiter R.D., Wilkie T.M., Chen H.Y., Brinster R.L. (1984). Transmission distortion and mosaicism in an unusual transgenic mouse pedigree. *Cell*, **36**, 869-877.
- Pasteels J. (1953). Contributions à l'étude du développement des reptiles. I. Origine et migration des gonocytes chez deux Lacertiens. *Arch. Biol.*, **64**, 227-245.
- Perlman S., Rosbash M. (1978). Analysis of *Xenopus laevis* ovary and somatic cell polyadenylated RNA by molecular hybridization. *Dev. Biol.*, **63**, 197-212.
- Pincus G., Enzmann E.V. (1935). The comparative behavior of mammalian eggs in vivo and in vitro. I. The activation of ovarian eggs. *J. Exp. Med.*, **62**, 665-675.
- Pinkerton J.H.M. et al. (1961). Development of the human ovary: A study using histochemical techniques. *Obstet. Gynecol.*, **18**, 152-181.
- Pocchia D. (1986). Remodeling of nucleoproteins during gametogenesis, fertilization, and early development. *Int. Rev. Cytol.*, **105**, 1-65.
- Postlethwait J.H., Brownes M., Jowett T. (1980). Sexual phenotype and vitellogenin synthesis in *Drosophila melanogaster*. *Dev. Biol.*, **79**, 379-387.
- Postlethwait J.H., Giorgi F. (1985). Vitellogenesis in insects. In: L. Browder (ed.), *Developmental Biology: Oogenesis*, Plenum, New York, pp. 85-126.
- Racowsky C. (1985). Effect of forskolin on the spontaneous maturation and cyclic AMP content of hamster and oocyte-cumulus complexes. *J. Exp. Zool.*, **234**, 87-96.
- Racowsky C., Satterlie R.A. (1985). Metabolic, fluorescent dye and electrical coupling between hamster oocytes and cumulus cells during meiotic maturation in vivo and in vitro. *Dev. Biol.*, **108**, 191-202.
- Reynaud G. (1969). Transfert de cellules germinales primordiales de dindon à l'embryon de poulet par injection intravasculaire. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **21**, 485-507.
- Reynhout J.K., Smith L.D. (1974). Studies on the appearance and nature of a maturation-inducing factor in the cytoplasm of amphibian oocytes exposed to progesterone. *Dev. Biol.*, **38**, 394-400.
- Rivier C., Rivier J., Vale W. (1986). Inhibin-mediated feedback control of follicle-stimulating hormone secretion in the female rat. *Science*, **234**, 205-208.
- Rogulska T. (1969). Migration of chick primordial germ cells from the intracoelomically transplanted germinal crescent into the genital ridge. *Experientia*, **25**, 631-632.
- Rogulska T., Ozdzenski W., Komer A. (1971). Behavior of mouse primordial germ cells in chick embryo. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **25**, 155-164.
- Romanoff A.L. (1960). *The Avian Embryo*, Macmillan, N.Y.
- Schultz R.M., Montgomery R.R., Belanoff J.R. (1983). Regulation of mouse oocyte maturation: Implications of a decrease in oocyte cAMP and protein dephosphorylation in commitment to resume meiosis. *Dev. Biol.*, **97**, 264-273.
- Scully N.F., Shur B.D. (1988). Stage-specific increase in cell surface galactosyltransferase activity during spermatogenesis in mice bearing *t* alleles. *Dev. Biol.*, **125**, 195-199.
- Simon D. (1960). Contribution à l'étude de la circulation et du transport des gonocytes primaires dans les blastodermes d'oiseau cultivés in vitro. *Arch. Anat. Micr. Morph. Exp.*, **49**, 93-176.
- Skipper J.K., Hamilton T.H. (1977). Regulation by estrogen of the vitellogenin gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **74**, 2384-2388.
- Smith L.D. (1966). The role of a "germinal plasma" in the formation of primordial germ cells in *Rana pipiens*. *Dev. Biol.*, **14**, 330-347.
- Smith L.D., Ecker R.E. (1969). Role of the oocyte nucleus in physiological maturation in *Rana pipiens*. *Dev. Biol.*, **19**, 281-309.
- Sorensen R., Wasserman P.M. (1976). Relationship between growth and meiotic maturation of the mouse oocyte. *Dev. Biol.*, **50**, 531-536.
- Stott D., Wylie C.C. (1986). Invasive behavior of mouse primordial germ cells in vitro. *J. Cell Sci.*, **86**, 133-144.

- Streeter P.R., Berg E.L., Rouse B.T.N., Bargatzke R.F., Butcher E.C. (1988). A tissue-specific endothelial cell molecule involved in lymphocyte homing. *Nature*, **331**, 41–46.
- Subtelny S., Penkala J.E. (1984). Experimental evidence for a morphogenetic role in the emergence of primordial germ cells from the endoderm of *Rana pipiens*. *Differentiation*, **26**, 211–219.
- Sutasurya L.A., Nieuwkoop P.D. (1974). The induction of primordial germ cells in the urodeles. *Wilhelm Roux Arch. Entwicklungsmech. Org.*, **175**, 199–220.
- Swanson C.P., Merz T., Young W.J. (1981). Cytogenetics: The Chromosome in Division, Inheritance and Evolution, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- Swift C.H. (1914). Origin and early history of the primordial germ-cells in the chick. *Am. J. Anat.*, **15**, 483–516.
- Taylor M.A., Smith L.D. (1987). Induction of maturation in small *Xenopus laevis* oocytes. *Dev. Biol.*, **121**, 111–118.
- Telfer W.H., Woodruff R.L., Huebner E. (1981). Electrical polarity and cellular differentiation in meroistic ovaries. *Am. Zool.*, **21**, 675–686.
- Von Wettstein D. (1971). The synaptonemal complex and four-strand crossing over. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **68**, 851–855.
- Von Wettstein D. (1984). The synaptonemal complex and genetic segregation. In: C.W. Evans and H.G. Dickinson (eds.), *Controlling Events in Meiosis*, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 195–231.
- Woodruff R.L., Telfer W.H. (1980). Electrophoresis of proteins in intercellular bridges. *Nature*, **386**, 84–86.
- Wylie C.C., Heasman J., Swan A.P., Anderton B.H. (1979). Evidence for substrate guidance of primordial germ cells. *Exp. Cell Res.*, **121**, 315–324.
- Yanagisawa K. et al. (1974). Transmission ratio distortion at the T locus: Serological identification of two populations in *t* heterozygotes. *Immunogenetics*, **1**, 91–96.
- Züst B., Dixon K.E. (1977). Events in the germ cell lineage after entry of the primordial germ cell into the genital ridges in normal and UV-irradiated *Xenopus laevis*. *J. Embryol. Morphol.*, **41**, 33–46.
- ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА К 3-МУ ИЗДАНИЮ**
- Auerbach R. et al. (1987). Specificity of adhesion between murine tumor cells and capillary endothelium: an in vitro correlate of preferential metastasis in vivo. *Cancer Res.*, **47**, 1492–1496.
- Baulieu E.E. (1989). Contraception and other clinical applications of RU 486, an antiprogesterone at the receptor. *Science*, **245**, 1351–1357.
- Braun R.E., Behringer R.R., Peschon J.J., Brinster R.L., Palmiter R.D. (1989a). Genetically haploid spermatids are phenotypically diploid. *Nature*, **337**, 373–376.
- Borovsk D., Carlson D.A., Griffin P.R., Shabanowitz J., Hunt D.F. (1990). Mosquito oostatic factor: A novel decapeptide modulating trypsin-like enzyme biosynthesis in the midgut. *FASEB J.*, **4**, 3015–3020.
- Braun R.E. et al. (1989b). Protamine 3'untranslated sequences regulate temporal translational control and subcellular localisation of growth hormone in spermatids of transgenic mice. *Genes Dev.*, **3**, 793–802.
- Fox C.A., Sheets M.D., Wickens M.P. (1989). Poly(A) addition during maturation of frog oocytes: distinct nuclear and cytoplasmic activities and regulation by the sequence UUUUUAU. *Genes Dev.*, **3**, 2151–2162.
- Gallatin W.M., Weissmann I.L., Butcher E.C. (1983). A cell surface molecule involved in organ-specific homing of lymphocytes. *Nature*, **304**, 30–35.
- Gallatin W.M. et al. (1986). Lymphocyte homing receptors. *Cell*, **44**, 673–680.
- Green G.R., Poccia D.L. (1988). Interaction of sperm histone variants and linker DNA during spermiogenesis in the sea urchin. *Biochemistry*, **27**, 619–625.
- Hill D.P., Shakes D.C., Wards S., Strome S. (1989). A sperm-supplied product essential for initiation of normal embryogenesis in *Gaenorhabditis elegans* is encoded by the paternal effect embryonic-lethal gene, *spe-11*. *Dev. Biol.*, **136**, 154–166.
- Hoyle H.D., Raff E.C. (1990). Two *Drosophila* β -tubulin isoforms are not funktionally equivalent. *J. Cell Biol.*, **111**, 1009–1026.
- Inoue S., Hiroyoshi T. (1986). A maternal-effect sex-transformation mutant of the housefly, *Musca domestica* L. *Genetics*, **112**, 469–481.
- Karr T.L. (1988). Persistence of the sperm tail during early embryonic development in *Drosophila* visualized using sperm-specific monoclonal antibodies. *J. Cell Biol.*, **107**, 173a.
- MacDonald P.M. (1990). *bicoid* mRNA localization signal: Phylogenetic conservation of function and RNA secondary structure. *Development*, **110**, 161–171.
- Manseau L.J., Schüpbach T. (1989). *cappuccino* and *spire*: two unique maternal effect loci required for both the antero-posterior and dorsoventral patterns of *Drosophila* embryo. *Genes Dev.*, **3**, 1437–1452.
- Masui Y. (1974). A cytostatic factor in amphibian: Its extraction and partial characterization. *J. Exp. Zool.*, **187**, 141–147.
- Nakamache M., Berg E.L., Streeter P.R., Butcher E.C. (1989). The mucosal vascular addressin is a tissue-specific endothelial cell adhesion molecule for circulating lymphocytes. *Nature*, **337**, 179–181.
- Palka J. (1989). The pill of choice? *Science*, **245**, 1319–1323.
- Paules R.S. et al. (1989). Mouse *mos* proto-oncogene product is present and functions during oogenesis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **86**, 5395–5399.
- Sagata N., Oscarsson M., Copeland T., Brumbaugh J., Vande Woude G.F. (1988). Function of *c-mos* proto-oncogene product in meiotic maturation in *Xenopus* oocytes. *Nature*, **335**, 519–525.
- Sagata N., Watanabe N., Vande Woude G.F., Ikawa Y. (1989). The *c-mos* proto-oncogene product is a cytostatic factor responsible for meiotic arrest in vertebrate eggs. *Nature*, **342**, 512–518.
- Sen D., Gilbert W. (1988). Formation of parallel four-stranded complexes by guanine-rich motifs in DNA and its implications for meiosis. *Nature*, **334**, 364–366.
- Stephanson E.C., Chao Y.-C., Fackenthal J.D. (1988). Molecular analysis of the *swallow* gene of *Drosophila melanogaster*. *Genes Dev.*, **2**, 1655–1665.
- Streeter P.R., Berg E.L., Rouse B.T.N., Baargatzke R.F., Butcher E.C. (1988a). A tissue-specific endothelial cell molecule involved in lymphocyte homing. *Nature*, **331**, 41–46.
- Streeter P.R., Rouse B.T.N., Butcher E.C. (1988b). Immunohistologic and functional characterization of a vascular addressin involved in lymphocyte homing into peripheral lymph nodes. *J. Cell. Biol.*, **107**, 1853–1862.
- Vassalli J.-D. and 8 others. (1989). Regulated polyadenylation controls mRNA translation during meiotic maturation of mouse oocytes. *Genes Dev.*, **3**, 2163–2171.
- Watanabe N., Vande Woude G.F., Ikawa Y., Sagata N. (1989). Specific proteolysis of the *c-mos* proto-oncogene product by calpain on fertilization of *Xenopus* eggs. *Nature*, **342**, 505–517.
- Woodruff R.L., Kulp J.H., LaGaccia E.D. (1988). Electrically mediated protein movement in *Drosophila* follicles. *Roux Arch. Dev. Biol.*, **197**, 231–238.
- Woodruff T.K. et al. (1988). Dynamic changes in inhibin messenger RNAs in rat ovarian follicles during the reproductive cycle. *Science*, **239**, 1296–1299.
- Yisaeli J.K., Sokol S., Melton D.A. (1990). A two-step model for the localization of a maternal mRNA in *Xenopus* oocytes: involvement of microtubules and microfilaments in translocation and anchoring of Vg1 mRNA. *Development*, **108**, 289–298.

Глава 23

Эмбриологические механизмы эволюционных изменений

*Как новое приходит в мир? Как оно рождается?
Из каких оно создано сплавов, толкований, сочетаний?
Как ему, столь экстремальному и опасному, удастся
выжить?*

*На какие компромиссы, какие сделки, какие измены своей
тайной природе оно должно идти,
Чтобы избежать крушения, уничтожения, гильотины?*

САЛМАН РУШДИ (1988)

Первая Птица вылупилась из яйца Рептилии

ВАЛЬТЕР ГАРСТАНГ (1922)

«Единство типа и условий существования»

Чарлз Дарвин унаследовал от прошлого накапливавшиеся веками спекуляции относительно происхождения животных и природы их разнообразия. Образование, полученное самим Дарвином, было пропитано в соответствии с британскими традициями естественным богословием, которое проповедовало, что мудрость, вездесущность и благожелательность Господа проявляются в его творениях. В этой традиции доминировало представление об Акте творения, утверждающее, что виды созданы Творцом по его собственным замысловатым проектам. Пальцы человеческой руки являют собой необыкновенно искусно (некоторые говорили «совершенно») задуманные изобретения, дающие людям власть над всем, что их окружает. Лопатообразная лапа крота в свою очередь превосходно приспособлена к среде его обитания, так же как крылья птиц и плавники рыб. Более изощренная форма естественного богословия, за которую в Англии ратовал анатом и эмбриолог Ричард Оуэн, отводила адаптациям второстепенную роль, считая действительно важной идею о том, что рука человека, лапа крота, крыло птицы и плавник рыбы построены по одному и тому же плану. Рассматривая отвлеченно план строения данной конечности, мы можем выявить тот великий замысел, в соответствии с которым Господь построил конечности всех позвоночных. По

Оуэну (Owen, 1848), главное – это гомологии, лежащие в основе разнообразия животных, а не вторичные адаптации этих исходных элементов.

Синтез, произведенный Чарлзом Дарвином

Дарвин отдал должное этим первым дебатам, написав (1859): «Общепризнано, что строение всех органических существ подчинено двум великим законам – единства типа и единства условий существования». Далее Дарвин пишет, что его теория даст объяснение единству типа, связанному с происхождением. Изменения, создающие эти типы и вызывающие замечательные адаптации к условиям существования, были объяснены, кроме того, теорией естественного отбора. Дарвин назвал это «происхождением с модификацией». Прочитав в 1842 г. изложение законов фон Бэра (von Baer), сделанное Иоханнесом Мюллером (Müller), Дарвин понял, что сходство между зародышами может оказаться очень сильным доводом в пользу генетической связанности различных групп животных. «Общность эмбриональных структур указывает на общность происхождения» – к такому заключению он приходит в «Происхождении видов».

Личиночные формы использовались в таксономической классификации еще до Дарвина.

Дж. В. Томпсон (J. V. Thompson), например, показал, что личинки морского желудя почти идентичны личинкам креветки и поэтому относил морских желудей к членистоногим, а не к моллюскам (рис. 23.1; Winsor, 1969). Дарвин как специалист по таксономии морских желудей очень высоко оценил это открытие: «Даже прославленный Кювье не заметил, что морская уточка – ракообразное, но одного взгляда на личинку достаточно, чтобы в этом не осталось никаких сомнений». Эволюционная интерпретация Дарвином законов фон Бэра привела к созданию парадигмы, которой ученые следовали на протяжении многих десятилетий: родственные связи между группами могут быть выявлены при обнаружении общих личиночных форм. Вскоре сходное открытие сделал А. О. Ковалевский (1871), о чем написал Дарвин в «Происхождении человека». Ковалевский обнаружил, что у личинок оболочников имеется хорда, а по закладке и развитию нервной трубки и других органов они очень сходны с примитивным хордовым – ланцетником. Это позволило разрешить еще одну таксономическую загадку: оболочники (которых обычно, так же как

и морских уток, относили к моллюскам) заняли свое место среди хордовых. Дарвин обратил также внимание на то, что у зародышей иногда имеются структуры, ненужные взрослой форме, но указывающие на их родственные связи с другими животными. Он обратил внимание на наличие глаз у зародышей кротов, рудиментов таза – у зародышей змей и зубов – у зародышей беззубых китов. Ранее в этой книге было отмечено, что у зародышей млекопитающих образуется рудиментарный желточный мешок, снабженный кровеносными сосудами, и что по характеру морфогенетических движений они сходны с птицами и рептилиями, развитие которых происходит внутри этого мешка.

Дарвин утверждал также, что адаптации, которые отклоняются от «типа» и дают организму возможность выжить в его особой среде, появляются на поздних стадиях эмбрионального развития. Он отмечает, что различия между видами и родами возникают, как это предсказывают законы фон Бэра, лишь на поздних стадиях развития и, чтобы убедиться в этом, он даже усыплял с помощью хлороформа голубей (очень неохотно). Таким образом, Дарвин различал два подхода к «происхождению с модификацией»: можно делать упор на общее происхождение, указывая на гомологии у зародышей двух или нескольких групп животных, или выдвигать на первый план модификации, показывая, как изменилось развитие, с тем чтобы могли возникнуть структуры, дававшие животным возможность адаптироваться к тем или иным условиям среды.

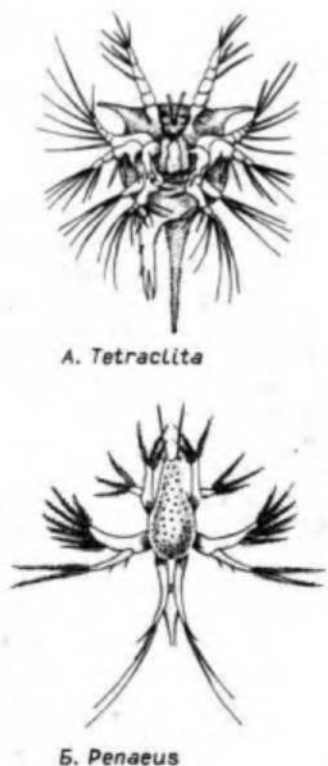
Дарвин не пытался строить полные филогении, основанные на эмбриологических данных, но его работы побудили к этому многих его современников. Одним из первых ученых, оценивших эволюционное значение исследований фон Бэра, был Илья Мечников. Мечников понимал, что в основе эволюции лежат не модификации взрослых организмов, а модификации эмбриональных стадий. В 1891 г. он писал:

«Человек появился в результате одностороннего, но не общего совершенствования, и он близок не столько к взрослым человекообразным обезьянам, сколько к их неравномерно развитым плодам. С чисто естественноисторической точки зрения можно было бы рассматривать человека как обезьяньего «монстра» с непропорционально развитым мозгом, лицевой частью головы и руками».

Таким образом, эволюция организмов происходит в результате изменения их эмбрионального развития.

Э. Б. Вильсон и Ф. Р. Лилли

Если изменения в эмбриональном развитии приводят к эволюционным изменениям, то как происхо-



А. *Tetracita*

Б. *Panaeus*

Рис. 23.1. Науплиусы (личинки): А – морской утки *Tetracita* (вид с брюшной стороны) и Б – креветки *Panaeus* (вид со спинной стороны). Личинки этих ракообразных очень сходны на ранних стадиях развития, но в дальнейшем они сильно дивергируют. (По Müller, 1864.)

дят эти изменения в развитии? В конце прошлого века многие исследователи пытались связать эмбриогенез с филогенезом путем анализа клеточных линий. Они тщательнейшим образом наблюдали за каждой клеткой развивающихся зародышей и сравнивали способы формирования тканей (гистогенез) у разных организмов. В 1898 г. два выдающихся эмбриолога прочитали в Лабораториях биологии моря в Вудс-Холе (Массачусетс) лекции о клеточных линиях; в этих лекциях подчеркивались два способа использования эмбриологии в поддержку эволюционной биологии. Первая лекция, прочитанная Э. Б. Вильсоном (E. B. Wilson), была важной вехой в исследовании гомологий у зародышей с целью установления филогенетических связей. Изучая спиральное дробление у плоских червей, моллюсков и кольчатых червей (аннелид), Вильсон обнаружил, что во всех случаях каждый данный орган образуется из одной и той же группы клеток. На основании этого Вильсон пришел к выводу, что все три типа животных происходят от одного общего предка. На стадиях дробления различные группы клеток у плоских червей, моллюсков и аннелид «так близки друг другу по происхождению и по дальнейшей судьбе, что объяснить это сходство чем-то иным, кроме как наличием общего предка, просто невозможно. Сами различия, как мы увидим, служат некоторыми из наиболее интересных и убедительных доказательств генетического родства, ибо процессы, которые у низших форм играют ведущую роль в развитии, у высших форм так сильно редуцированы, что представляют собой не более, чем следы или напоминания о том, чем они были, а в некоторых случаях совершенно отсутствуют, так же как, например, зубы у птиц или конечности у змей».

Вторую лекцию прочитал Ф. Р. Лилли (F. R. Lillie), который также изучал развитие зародышей моллюсков и модификации клеточных линий, обращая особое внимание на модификации, а не на сходные черты в дроблении. Его исследования по двусторчатому моллюску перловице (*Unio*) были изложены в гл. 3; модифицированное дробление у этого моллюска приводит к образованию глохидия — личинки, благодаря которой перловица способна выжить в проточных водоемах. Лилли указывал, что в «современных» эволюционных исследованиях следовало бы сосредоточить внимание на изменениях эмбрионального развития, обеспечивающих выживание в той или иной среде, а не увлекаться изучением гомологий у предковых форм, на основании которых устанавливается общность происхождения животных.

Так в 1898 г. были ясно определены два главных момента в изучении эволюции и развития: выявление глубинного единства, которое позволяет объе-

динять коренным образом различающиеся группы организмов, и обнаружение различий, благодаря которым виды получают возможность адаптироваться к определенным условиям окружающей среды. (Эти же направления были характерны для двух типов естественного богословия до Дарвина.) Дарвин полагал, что эти два аспекта разделены во времени (т. е. глубинное сходство следует искать на самых ранних стадиях развития, тогда как на более поздних стадиях происходит дивергенция, обеспечивающая видоспецифичные адаптации [см. Osputat, 1981]). Однако как Вильсон, так и Лилли рассматривали лишь самую начальную стадию эмбриогенеза — дробление. Описанные два подхода к характеристике соотношения между эволюцией и развитием остаются главными до сих пор.

Эволюция раннего развития: E pluribus unum¹

Возникновение зародышей

Как в процессе эволюции, так и в процессе эмбрионального развития живых существ мы наблюдаем возникновение многоклеточности из одноклеточных организмов. Из отдельных частей клетки образуется некое новое целое. Это основополагающая ступень в возникновении нового уровня сложности. Volvocaceae и Dictyostelidae, упоминавшиеся в гл. 1, — всего лишь две из 17 групп протистов, достигших многоклеточности (Buss, 1987). Однако только у трех групп (у тех, от которых происходят грибы, растения и животные) развилась способность к формированию многоклеточных агрегатов, дифференцирующихся на клетки различных типов, т. е. к образованию зародышей.

Первые зародыши должны были разрешить самую главную проблему: поскольку каждая из составляющих клеток имела собственный генетический аппарат, а цитоплазматические структуры должны были разделиться, почему бы каждой клетке не продолжать свою самостоятельную пролиферацию? Что должно было заставить клетки пожертвовать способностью пролиферировать, чтобы совместно образовать единый индивидуум? Существовало, вероятно, несколько путей для решения этой проблемы. Басс (Buss) полагает, что у первых зародышей имело место резкое разделение между пролиферацией и дифференцировкой и что протисты, бывшие нашими предками, никогда не научились делиться после того, как у них дифференцировались реснички. Некоторые другие группы протистов (особенно Ciliata) были способны к образованию новых центров организации микротрубочек, тогда как наши предки

¹ Из множества единое (лат.).

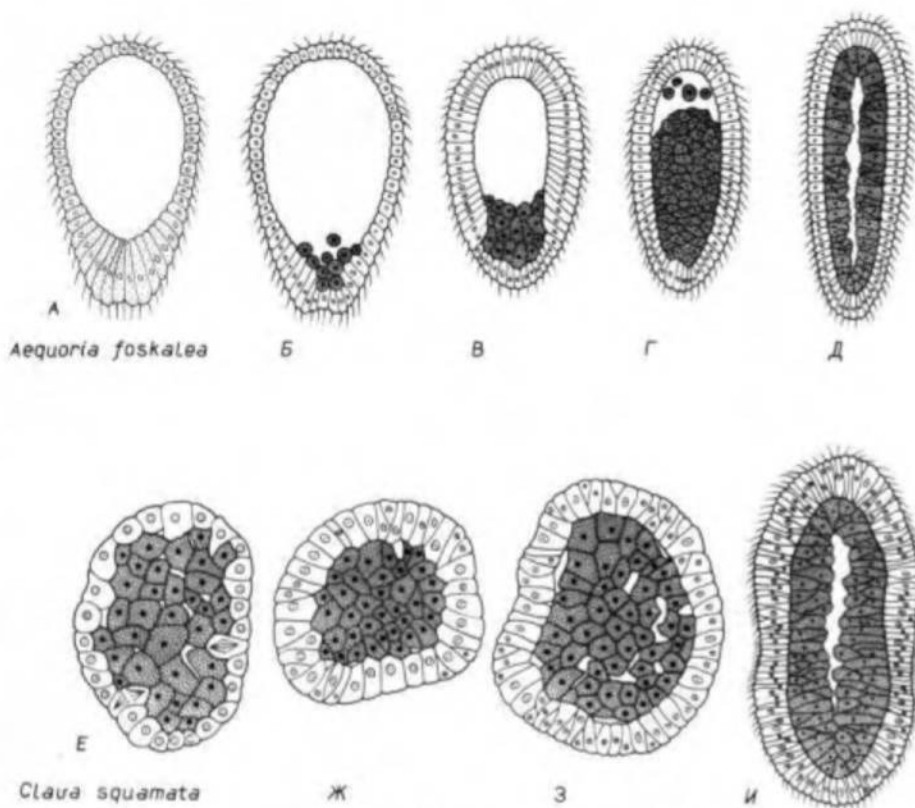


Рис. 23.2. Гастрония у двух гидроидных медуз. А–Д. Гастрония у *Aequoria forskalea*, приводящая к образованию покрытой ресничками гастронии. Клетки, находящиеся на вегетативном полюсе, теряют реснички и мигрируют в бластоцель, формируя там популяцию, делящуюся путем митоза. Е–Н. Гастрония у *Clava squamata*, в результате которой образуется наполненная клетками стеробластула, а затем ее наружный слой покрывается ресничками. Оба процесса приводят к образованию покрытой ресничками «планулы» – личинки, характерной для гидроидов. (У свободноплавающих зародышей не наблюдается эпителии нересничной эктодермы.) (По Buss, 1987.)

этого не умели. До сих пор у Metazoa нет ни одной ресничной клетки, которая была бы способна к делению (хотя ресничные клетки Metazoa могут разделиться, если предварительно утратят реснички). Басс полагает, что у предков современных Metazoa пролиферация клеток прекратилась в результате их дифференцировки в бластулу, состоявшую из ресничных клеток. Ранние зародыши первых типов Metazoa – губок и кишечнотелостных – представляли собой шары из ресничных клеток, сходные с зародышами морских ежей, рассматривавшихся в гл. 3. Эти ресничные бластулы были способны передвигаться, но, по-видимому, всякое развитие у них прекращалось, поскольку ресничные клетки неспособны ни к делению, ни к превращению в дифференцированные клетки каких-либо других типов. Для того чтобы превратиться в организм, следовало решить эту дилемму.

Проблема была решена путем сохранения или создания популяции клеток, лишенных ресничек. Такие клетки обеспечивали пролиферацию, образуя

новые клетки, тогда как реснички давали зародышу возможность перемещаться. Однако делящиеся нересничные клетки не могли перемещаться куда угодно. Они не могли нарастать на ресничные клетки, покрывая их поверхность, так как при этом перемещение зародыша стало бы невозможным. Они не могли расти наружу, так как это тормозило бы движение зародыша. Единственное, что им оставалось, – это мигрировать *внутри* бластоцели (рис. 23.2). Предполагается, что это перемещение и пролиферация клеток положили начало гастронии. Таким образом, бластула возникла как способ объединения автономных клеток в федерацию. А возникновение гастронии было компромиссом в пределах этой федерации, дававшим зародышу возможность развиваться, сохраняя подвижность¹ (Buss, 1987).

¹ Это модификация теории, первоначально выдвинутой Мечниковым (1886) для объяснения происхождения многоклеточных организмов. Используя эмбрионы гид-

Самые первые зародыши развивались, вероятно, таким мозаичным способом. Вторым механизмом, с помощью которого тотипотентные бластомеры оставались вместе, образуя единый организм, служила индукция. При этом каждая клетка вынуждена жертвовать своей автономией, чтобы создать связанное сообщество. Генри и др. (Henry et al., 1989) обнаружили, что если отдельные бластомеры морского ежа могут быть тотипотентными, то состоящие из этих клеток агрегаты нетотипотентны. Вероятно, каждая клетка ограничивает потенциальные возможности своих соседей (см. гл. 8). Эта ограничительная регуляция проявляется также у аллофенных мышей (см. гл. 3), когда бластомеры, комбинируясь, образуют одну химерную мышь вместо двух отдельных мышей. Очевидно, что как только клетки оказываются вместе, их потенциальные возможности сильно ограничиваются. Кроме того, как только эта внутренняя популяция клеток получает возможность взаимодействовать с наружной популяцией и с другими частями внутренней популяции, могут происходить индукционные события, дающие начало новым органам.

Каким бы образом ни формировалось это сообщество клеток, их интеграция в единый зародыш обеспечивается материнским вкладом в цитоплазму яйца. Именно этот набор инструкций заставляет клетки дробиться, располагаясь определенным образом, прочно прилегать друг к другу и дифференцироваться в определенные сроки. Как мы видели в гл. 14, зародыши морского ежа превращаются в покрытую ресничками бластулу, даже если ДНК в ядре не транскрибируется. Только во время гаструляции ядро начинает контролировать развитие. Таким образом отбор на уровне размножения клеток (что было законом выживания для протистов) заменил отбор на уровне отдельного многоклеточного организма.

роидных полипов и губок, Мечников показал, что некоторые клетки из стенки бластулы «втягивают внутрь свой жгутик, приобретают амебонидный облик и подвижность, размножаются делением, заполняют полость бластулы и становятся способными переваривать пищу». По мнению И. И. Мечникова, такое эмбриональное состояние «имеет поэтому право претендовать на то, чтобы считаться прототипом многоклеточных существ». Мечников пытался построить филогению всех организмов на основе их зародышевых листков и полагал, что все мезодермальные клетки могут быть охарактеризованы по их способности фагоцитировать чужеродные вещества. Его открытия в области сравнительной эмбриологии в конечном счете позволили ему сформулировать концептуальные основы новой науки — иммунологии. (Подробное изложение теории Мечникова о происхождении многоклеточности см. Chernyak, Tauber, 1988, 1991.)

Формирование типов.

Модификация путей развития

В настоящее время на нашей планете можно насчитать всего лишь 33 плана строения тела животных (Margulis, Schwartz, 1988). Они соответствуют типам животных. Не следует, однако, думать, что эти планы строения — единственно возможные. Принято считать, что среди отпечатков раннекембрийских животных из сланцев Бэрджес содержатся остатки животных 22 типов, потомки которых не были найдены в более высоких слоях (рис. 23.3). Кроме того, в этой небольшой полосе сланцевых отложений площадью с городской квартал обнаружены остатки дюжины неизвестных прежде классов насекомых. Эти животные не являются «примитивны-

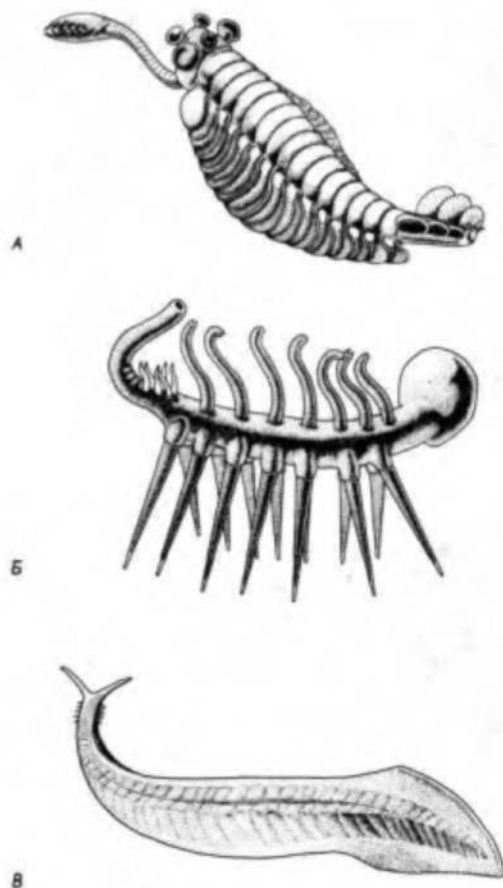


Рис. 23.3. Три ископаемых организма из сланцев Бэрджес (средний кембрий). А. *Opabina* — организм с пятью глазами на голове, передним придатком, заканчивающимся когтем, сегментированным туловищем, дорсальными жабрами и хвостом, состоящим из трех сегментов. Б. Удачно названная *Hallucigenia* с семью парами подпорок и дорсальными шупальцами. В. *Pikaia gracilens*, возможно принадлежащая к хордовым. (Из Gould, 1989).

ми» членами ныне существующих типов или классов; скорее это специализированные представители собственных групп (Whittington, 1985; Gould, 1989). В сланцах Бэрджес найдено также два представителя животного мира, возможно родственных предковым формам ныне существующих типов. Один из этих представителей – животное, напоминающее перипатуса, которое, по-видимому, близко к предковой форме насекомых, а другой, вероятно, является каким-то хорошо сохранившимся хордовым (названное *Pikaia gracilens*); не исключено, что этот последний экземпляр родственен предковым хордовым (рис. 23.3, В). Это второе ископаемое обладает рядом признаков, оправдывающих его отнесение к хордовым: у него, по-видимому, имелась хорда и косые полосы по бокам тела, очень похожие на мышечные сегменты ланцетника (Conway, Morris, Whittington, 1979). Таким образом, все известные (и многие другие, пока еще неизвестные) типы Metazoa, вероятно, сформировались 570 млн. лет назад.

Если современные интерпретации палеонтологической летописи верны, то эукариотические клетки появились примерно 1,4 млрд. лет назад, все типы животных сложились в течение последующих 800 млн. лет и за последние полмиллиарда лет никаких новых морфологических планов строения к ним не добавлялось. Каким же образом за такой относительно короткий срок возникли эти основные планы строения и почему впоследствии не появилось ни одного другого типа? Кауфман (Kauffman, 1993) построил математическую модель, согласно которой для любой развивающейся системы (будь то тип или вид организмов, автомобиль или религиозное учение) характерна подобная дивер-

генция, после чего принимается один из вариантов первоначального многообразия. Кауфман использует метафору изрезанного адаптивного ландшафта, где имеются адаптивные пики и долины, а все организмы первоначально обладают одинаковой средней приспособленностью. Сделав большие скачки, они с вероятностью 50% повысят свою приспособленность. В конечном итоге шансы найти такой план строения, который сделает их более приспособленными, уменьшаются, если животное перескакивает на слишком большое расстояние от того места, где оно находится. Таким образом, длинные прыжки становятся чересчур рискованными, тем более, что высокие адаптивные пики могут оказаться уже занятыми. Зато небольшие прыжки (в пределах данного типа) могут сделать данный организм несколько более приспособленным, чем окружающая популяция. В результате создается некоторое разнообразие вокруг нескольких удачных моделей. В общем промежутки времени между успешными длинными прыжками увеличиваются вдвое с каждой попыткой. Возможно, что в течение раннего кембрия в геноме еще не успели стабилизироваться те множества взаимодействий, которые мы наблюдаем сегодня. Кроме того, для многих групп беспозвоночных характерно чередование поколений, при котором половая форма дает начало бесполой форме (зооиду, полипу, почке), в свою очередь снова дающей начало половой форме. В таких случаях соматические мутации, возникшие у бесполой формы, могут попасть в тело половой формы и очень быстро распространиться (рис. 23.4; Buss, 1987).

Каким образом может измениться один план строения и возникнуть другой? Во-первых, могут



Рис. 23.4. Быстрое появление новых вариантов у беспозвоночных, для которых характерно чередование поколений. В данном случае в клетках колонии гидроидного полипа возникает соматическая мутация. Некоторые из мутантных клеток становятся частью репродуктивного полипа, дающего начало медузам, в которые попадают мутантные клетки. Эти медузы размножаются половым путем, давая начало новым колониям, которые могут состоять из мутантных клеток.

модифицироваться самые ранние стадии развития. Согласно фон Бэру (см. гл. 5), животные, принадлежащие к разным видам, но к одному и тому же роду, дивергируют на очень поздних стадиях развития. Чем сильнее дивергировали виды один от другого, тем раньше проявляются различия между их зародышами. Так, зародышей белого гуся можно отличить от зародышей голубого гуся лишь на очень поздних стадиях развития. Однако дивергенция от куриных зародышей у зародышей белого гуся наблюдается несколько раньше, а отличить гусиные зародыши от зародышей ящерицы можно даже на еще более ранних стадиях. Создается впечатление, что возникновение новых планов строения, обусловленное мутациями, достигается за счет их воздействия на ранние стадии развития.

Эти ранние изменения в развитии могут возник-

нуть в результате изменения локализации цитоплазматических детерминантов, влияющих на скорость деления одной клетки или группы клеток относительно других или изменяющих расположение клеток во время их деления. В гл. 3 мы упоминали о том, что в результате модификации процесса дробления у моллюсков основная часть цитоплазмы переходит в эктодермальные клетки, образующие раковину личинки. Это обусловлено изменением характера деления бластомеров и распределения цитоплазмы между ними. У кольчатых червей различия между полихетами и олигохетами проистекают из различий в локализации морфогенов в цитоплазме яйца (рис. 23.5). Обеим группам присуще спиральное дробление, однако морфогены у каждой группы распределяются по разным клеткам. Полихеты претерпевают относительно стандартное спи-

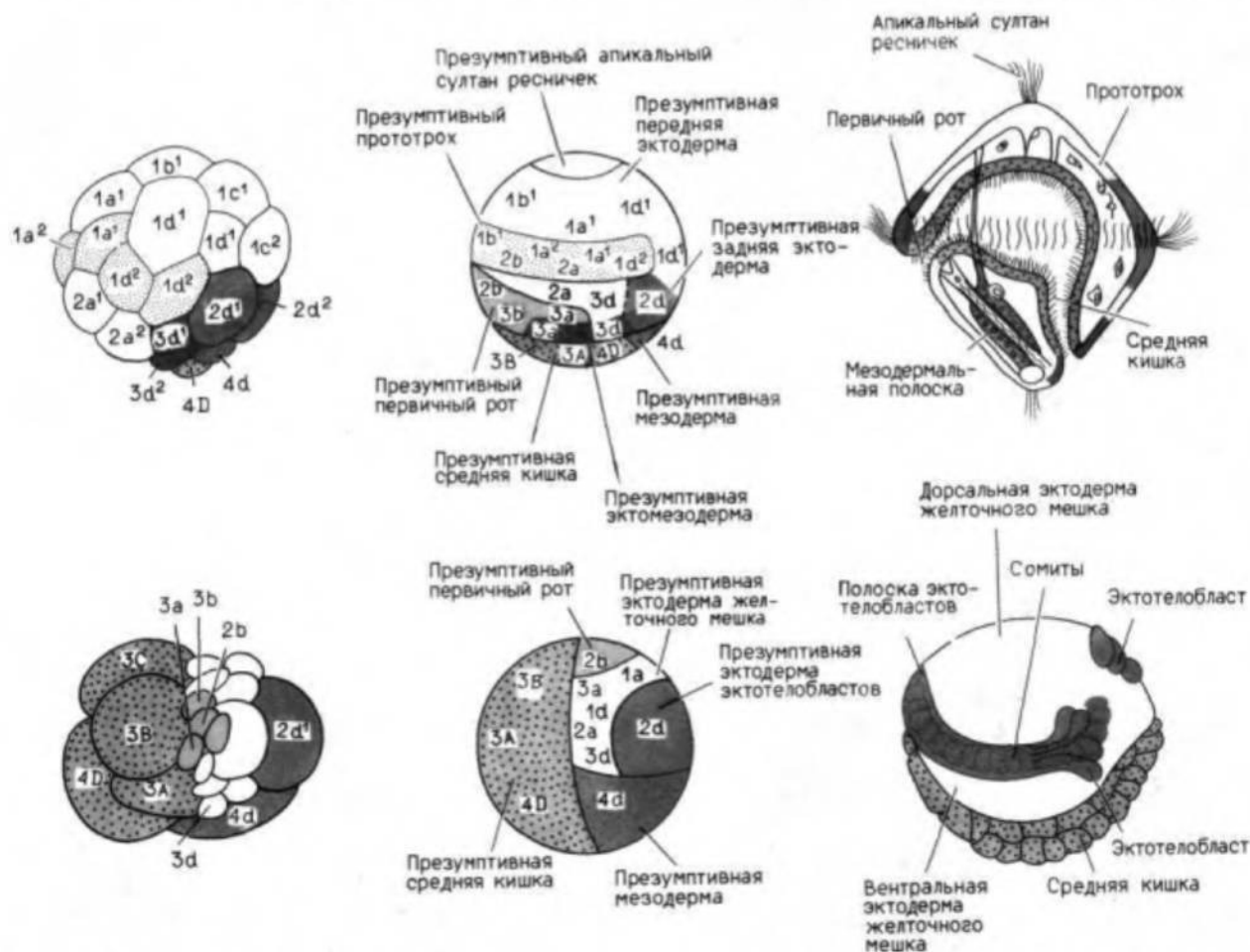


Рис. 23.5. Сопоставление развития представителей двух классов кольчатых червей: полихеты *Podarke* (верхний ряд) и олигохеты *Tubifex* (нижний ряд). Показаны дробление (слева) карты зачатков на стадии бластулы (в середине) и гаструляция у *Tubifex* (внизу справа). У *Podarke* гаструляция ведет к образованию трохофоры (вверху справа). У *Tubifex* личиночная стадия отсутствует, и зародыш непосредственно развивается в сегментированную взрослую особь. (По Raff, Kaufman, 1983).

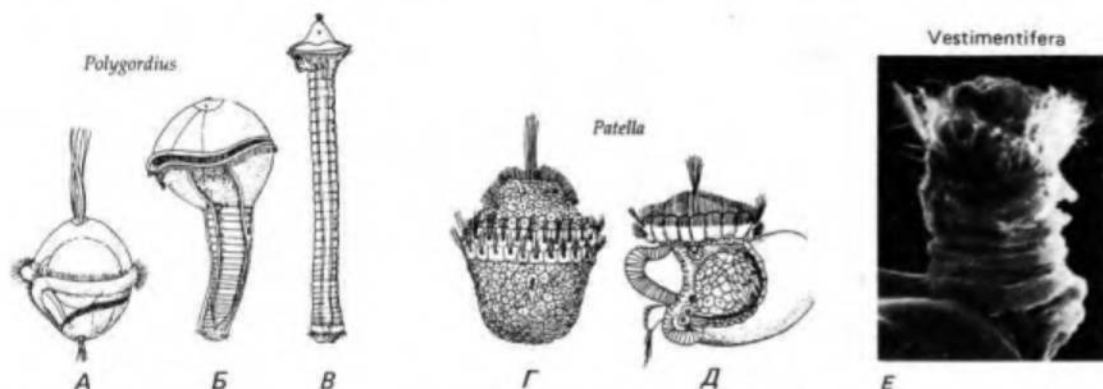


Рис. 23.6. Дивергенция развития после прохождения личиночной стадии – трохофоры. А–В. Формирование сегментированного туловища у многощетинкового кольчатого червя *Poligordius* в процессе метаморфоза из его свободно плавающей личинки трохофоры. В конце метаморфоза, при формировании головы, личиночные структуры на переднем конце тела отмирают. Г–Д. Метаморфоз у переднежаберного моллюска блюдечка (*Patella*). По окончании личиночного развития у него развиваются типичная для моллюсков нога, раковинная железа и горбовидное образование (мантия), содержащее висцеральные органы (Г–вид спереди; Д–вид сбоку). Е. Микрофотография трохофоры одного из представителей *Vestimentifera*, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа. (А–Д – по Grant, 1978; Е – из Jones, Gardner, 1989; фотография с любезного разрешения авторов.)

ральное дробление, в результате которого образуется типичная для кольчатых червей личинка – трохофора. Что касается олигохет, то у них большая часть цитоплазмы направляется в клетки, предназначенные для образования дефинитивных, а не личиночных структур. Эти клетки как бы пропускают личиночную стадию. Если в результате мутации тот или иной цитоплазматический морфоген попадает вместо одного участка яйца в другой или же если мутация вызовет изменение оси клеточного деления, так что эти детерминанты попадут в другие группы клеток, то может возникнуть организм с совершенно иным фенотипом. Конклин писал (Conklin, 1915): «Мы позвоночные, потому что наши матери были позвоночными и производили яйца, типичные для позвоночных».

Другой тип эволюции новых типов может быть связан с модификацией личинки. Дарвин и некоторые другие ученые полагали, что сходство между личиночными формами свидетельствует об общем происхождении. Однако это можно переосмыслить в том плане, что изменения, дающие начало различным типам, возникают у личинок. Картины деления брюхоногих моллюсков, эхиурид и полихет очень сходны и у всех трех групп образуются одинаковые личинки – трохофоры (рис. 23.6). В сущности вновь открытый тип *Vestimentifera* (ярко-красные беспозвоночные, не имеющие кишечника, обнаруженные в так называемых желобах – длинных впадинах на дне океана) систематики поместили вблизи от кольчатых червей именно потому, что у этого типа также личиночная стадия представлена трохофорой (Jones, Gardiner, 1989). Таким образом, одним из главных механизмов возникновения новых типов или клас-

сов могла быть перестройка развития на личиночной стадии, в результате чего при метаморфозе появились организации нового типа. Гарстанг (Garstang, 1928) показал, как в результате мутации могла возникнуть личинка некоторых брюхоногих – парусник; эта мутация была поддержана отбором, потому что новое расположение головы и раковины создавало возможность в случае опасности втягивать голову под раковину. Кроме того, Гарстанг сформулировал гипотезу о происхождении хордовых от личинок предковых оболочников, ставших неотеническими. К сожалению, мягкотелые личинки очень редко fossilизируются, так что у нас крайне мало данных о механизмах, с помощью которых хордовые и другие типы могли возникнуть из раннекембрийских личинок¹.

¹ Личиночные формы часто используют для заполнения разрывов между различными взрослыми формами. Личиночная форма рассматривается либо как предковая для двух групп, либо как «оторвавшаяся» в результате неотении и образовавшая организм иного типа. Это нередко выдвигали в качестве предполагаемого механизма возникновения хордовых от беспозвоночных и позвоночных – от хордовых. Развитие торнарии (личинки полухордовых) протекает так, как это свойственно вторичноротым, и сходно с развитием личинок у иглокожих; торнария настолько сходна с последними, что ее вначале принимали за личинку иглокожих. Это позволяло установить связь между иглокожими и хордовыми. Гарстанг (Garstang, 1928) и Берилл (Berrill, 1955) выдвинули гипотезу о том, что некоторые оболочники эволюционировали в такое хордовое, как ланцетник, в результате неотенического развития. Таким образом они могли достигнуть половозрелости, сохраняя хорду, метамерную мускулатуру и ротовой аппарат личинки оболочника. Неотенические свободноплавающие оболочники действительно существуют (напри-

Морфогенетические механизмы эволюционных изменений

Изоляция

Авторы работ последних лет пытались восполнить этот пробел в наших знаниях, занявшись изучением генов, контролирующих эмбриональные и личиночные стадии развития. Одним из способов, с помощью которого изменения в развитии могут вызвать эволюционные изменения, является создание репродуктивной изоляции какой-либо группы в пределах данной популяции. Считается, что такая изоляция имеет существенное значение для формирования новых видов. Мутации, определяющие закрученность раковины у улиток (см. гл. 3), оказывают свое воздействие на ранних стадиях развития, изменяя расположение мезодермальных органов. Скрещивание между левозакрученными и правозакрученными улитками очень затруднено по механическим причинам, а у некоторых видов даже невозможно (Clark, Murgay, 1969). Эта мутация наследуется по материнскому типу, в результате чего возникает группа родственных особей, способных скрещиваться между собой, но не с другими членами исходной популяции. Эти репродуктивно изолированные улитки могут расширить область своего распространения и, постепенно накапливая новые мутации, образовать новый вид (Александров, Сергиевский, 1984).

Гомеозис

Крупные изменения в развитии возникают в тех случаях, когда изменяются взаимодействия между генами. Это может привести к появлению новых фенотипов на клеточном уровне, а иногда и на уровне организмов. Как говорилось в гл. 12 и 20, если структурный ген расположен непосредственно за каким-то новым энхансером, то он экспрессируется в те сроки или в том месте, которое детерминируется этим энхансером. Глобиновый ген, помещенный за определенными энхансерами у *Xenopus*, экспрессируется на стадии средней бластулы, а протоонкоген, оказавшийся в результате транслокации около энхансера иммуноглобулинового гена в предшественнике В-клетки, вызывает неконтролируемый рост лимфоцитов. Один из возможных путей изменения дифференцированного фенотипа данной клетки состоит в том, чтобы изменить энхансер какого-либо гена с помощью генной мутации или транслокации.

мер, Larvacea). В несколько модифицированном виде (исходя из другого ствола Protochordata) эту точку зрения недавно изложил Джеффрис (Jefferis, 1986). Происхождение хордовых до сих пор остается трудной проблемой.

Эта гипотеза была проверена на гавайских дрозофилах (Rabinow, Dickinson, 1986). У этих двукрылых происходит поразительно быстрое видообразование, причем у нескольких видов оно сопровождается перемещением генной экспрессии в другие ткани. Например, у личинок *Drosophila hawaiiensis* ген алкогольдегидрогеназы (АДГ) обычно экспрессируется в жировых телах и в скелете, а у личинок *D. formella* — только в жировых телах. Эти две АДГ различаются по своей электрофоретической подвижности. При скрещивании этих двух видов дрозофилы образуются гибридные личинки. Как показал анализ, жировые тела гибридов содержат как АДГ *D. hawaiiensis*, так и АДГ *D. formella*. Однако в скелетах гибридных личинок был обнаружен только белок, свойственный *D. hawaiiensis*. Таких результатов следует ожидать, если гены АДГ контролируются *цис*-регуляторными элементами и если они различаются у этих двух близкородственных видов. (Если бы экспрессия контролировалась *транс*-регуляторными элементами, то оба гена были бы либо включены, либо выключены.) Таким образом, создается впечатление, что энхансеры в процессе эволюции могут изменяться, что приводит к синтезу различных продуктов в разных тканях.

Если фенотипы клеток могут изменяться при изменении *цис*-регуляторных элементов структурных генов, то изменения, возникающие в результате изменений *транс*-регуляторных факторов, могут быть еще более значительными. В гл. 12 и 18 мы рассматривали гомеозисные трансформации у дрозофилы. Эти мутации вызваны изменениями некоторых *транс*-регуляторных факторов, связывающих энхансеры. В конце тридцатых годов Рихард Гольдшмидт (Richard Goldschmidt) и Конрад Х. Уоддингтон (Conrad H. Waddington) отмечали, что гомеозисные мутации дают возможность связать воедино развитие, генетику и эволюцию. Уоддингтон (1940) подчеркивал, что гомеозисные гены представляют собой переключатели, аналогичные переключателям на железнодорожных сортировочных горках, направляющих составы на тот или другой путь. Как полагал Гольдшмидт (1938), гомеозисные гены вызывают у зародыша несколько крупных изменений одновременно, что ведет к формированию новых видов. Привлекая внимание к гомеозисным трансформациям, эти ученые шли далеко впереди науки своего времени.

Во многих отношениях фенотипы, возникающие при гомеозисных делениях, сходны с постулированными ранними стадиями эволюции *Drosophila* (рис. 23.7). Считается, что *Drosophila*, принадлежащая к отряду двукрылых (Diptera), произошла от обычных четырехкрылых насекомых. Двукрылость могла возникнуть в результате делеции участка *Ubx* комплекса *bithorax*. Крылатые насекомые (Pterigo-

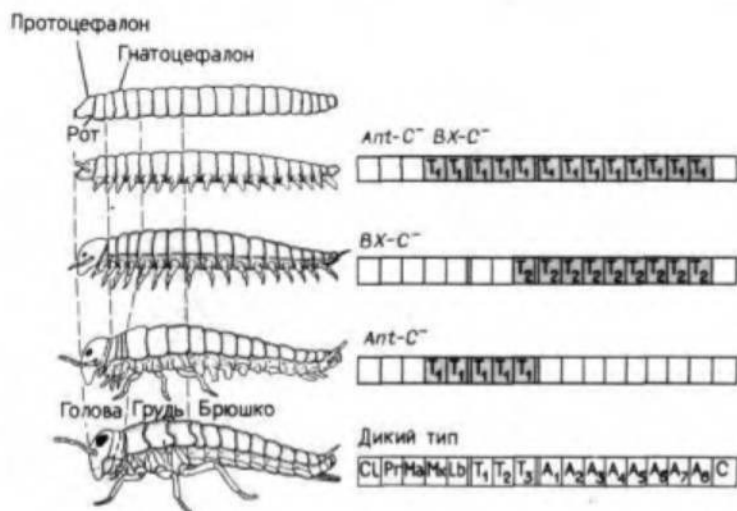


Рис. 23.7. Схема предполагаемой эволюции насекомых, происходившей путем добавления функций гомеозисных генов. А. Кольчезы. Б. Онихофоры. В. Многоножки. Г. Бескрылые насекомые. Д. Крылатые насекомые. Справа от каждого рисунка – генетическая конституция зародыша дрозофилы, которая приводит к развитию сегментированной структуры, сходной с сегментацией изображенных организмов. (По Raff, Kaufman, 1983.)

та), как полагают, произошли в процессе эволюции от бескрылых (Apterigota) насекомых. Это событие имитирует делеция гена *Antennapedia*, в отсутствие которого вся грудь развивается как бескрылый первый грудной сегмент. Считается, что бескрылые насекомые произошли от сходного с многоножками (*Millipedia*, *Centipedia*) существа; такое могло произойти при полной утрате геномом этого существа комплекса *bithorax* и при развитии задней части зародыша как грудного сегмента, несущего конечности. Наконец, если удалить оба набора гомеозисных генов (комплексы *Antennapedia* и *bithorax*), то развивается зародыш, сходный с самыми примитивными среди известных членистоногих – онихофорами. Рэфф и Кофмен пишут (Raff, Kaufman, 1983): «Таким образом, постепенно удаляя относительно небольшие количества генетического материала, нам удалось пройти довольно большой отрезок эволюционного пути»¹.

¹ Рэфф и Кофмен также предупреждают нас, что эти интересные аналогии не следует воспринимать чересчур буквально. В результате делеции из генома *Drosophila* генов *Antennapedia* получается сильно отклоняющаяся личинка мухи, но не многоножка. Подобным же образом четырехкрылые мухи, образующиеся в результате мутаций в *Ultrabithorax*, несут по две пары передних крыльев, а не пару передних и пару задних крыльев. Однако недавние исследования указывают на некоторые удивительные черты сходства между сегментацией у дрозофилы и позвоночных. Например, и у позвоночных, и у дрозофилы последовательность гомеозисных генов в хромосоме соответствует последовательности их экспрессии на передне-задней оси зародыша (дрозофила) или спинном мозге (позвоночные). Гены комплексов *Antennapedia* и *bithorax*, расположенных в третьей хромосоме дрозофилы, экспрессируются в той же последовательности по переднезадней оси, как гены *Hox-2*, находящиеся в 11-й хромосоме мыши (размышления об эволюции этих генов, детерминирующих тип структуры, см. Holland, 1990). Недавно было установлено, что в сегментах заднего мозга курицы имеются

Новые типы клеток могли также создаваться при возникновении новых комбинаций генов. Одним из крупных изменений, происходивших в типах животных, было возникновение клеток с новыми свойствами. Кауфман (Kaufman, 1988) построил математическую модель возникновения новых типов клеток из произвольно созданного генома, состоящего из 10 000 генов, каждый из которых регулируется двумя другими генами. Он обнаружил при этом только 100 стабильных состояний (из $2^{10\,000}$ возможных). Каждое из этих стабильных состояний представляет собой отдельный дифференцированный тип клеток. В некоторых случаях достаточно возникновения мутации в одном регуляторном гене, чтобы произошла перестройка взаимодействия и был создан новый тип клеток. Однако большую часть остальных генов это новое событие не затрагивает. Создание нового типа клеток в природе происходит редко и часто при этом изменяются характерные особенности данного животного. Например, клетки нервного гребня у позвоночных отличаются от клеток нервного гребня у протохордовых (полухордовые, личиночдохордовые и бесчерепные) (рис. 23.8). У протохордовых имеется нервная трубка и хорда, но нет настоящей «головы». Краниальные клетки нервного гребня играют значительную роль в развитии лицевых структур, черепной коробки и жаберных дуг. Считают, что развитие головы первоначально способствовало более эффективному хищничеству, поскольку при этом сенсорные структуры оказались рядом с че-

ограничения, определяемые границами между клеточными линиями (подобно границам между компартментами у дрозофилы); это также подтверждает гипотезы, постулирующие общность происхождения метамерных структур у насекомых и позвоночных (Fraser et al., 1990).

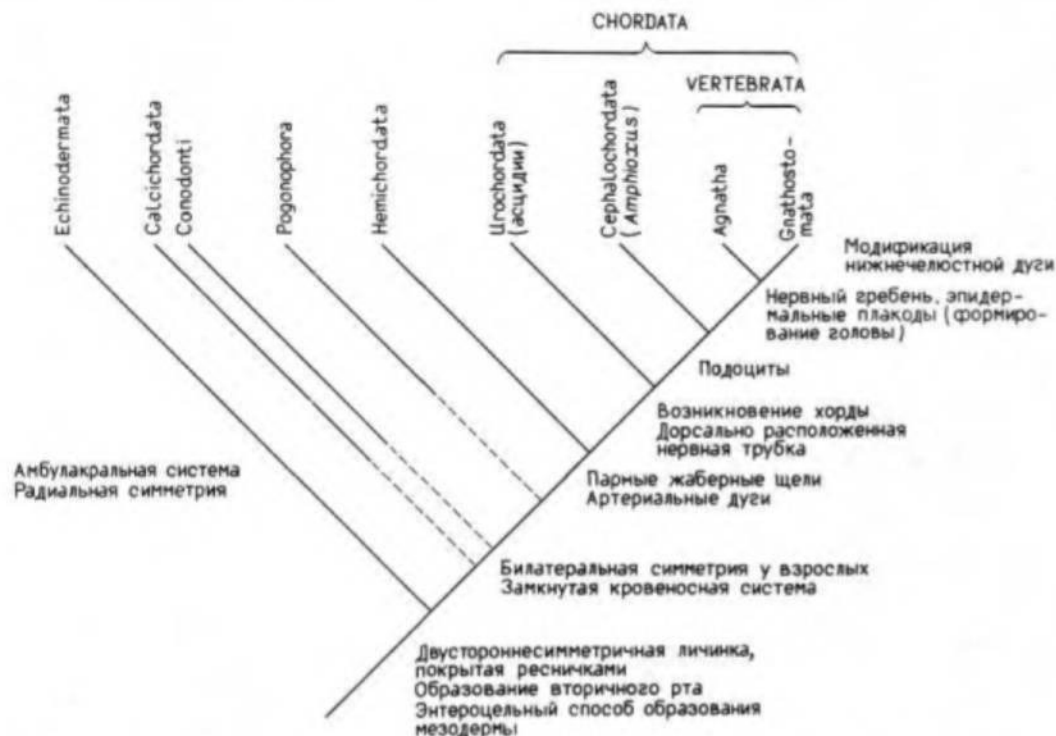


Рис. 23.8. Изменения в развитии, возникшие в процессе эволюции от беспозвоночных к позвоночным. От первых вторичноротых беспозвоночных произошли иглокожие и те организмы, которые в конечном итоге дали начало линии позвоночных. Способность мезодермы образовать хорду, а лежащей над ней эктодермы – превратиться в нервную трубку отделило хордовых от беспозвоночных. Развитие клеток нервного гребня и эпидермальных плакод, из которых образуются сенсорные нервные волокна, отличает позвоночных от протохордовых. (По Langille, Hall, 1989; Gans, 1989.)

люстями, схватывающими жертву (Gans, Northcutt, 1983; Langille, Hall, 1989). Как показано на рис. 23.8, предполагается, что позвоночные произошли от беспозвоночных в несколько этапов, связанных с формированием и модификацией новых типов клеток.

Развитие и эволюция в пределах сложившихся планов строения

Ограничения, налагаемые развитием

Мы уже отмечали, что число планов строения у животных относительно невелико и что можно без труда представить себе такие планы строения, которые не встречаются среди существующих типов животных. Почему число главных типов животных не может быть больше? Чтобы ответить на этот вопрос, мы должны рассмотреть ограничения, налагаемые на эволюцию. Существуют три основных класса ограничений, сдерживающих морфогенетическую эволюцию. Во-первых, как уже говорилось в гл. 20, на строении организма сказываются **физические ограничения**. Диффузионные и гидравлические факторы, а также необходимость механической

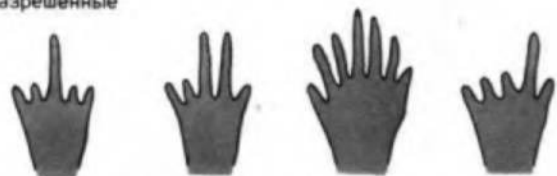
прочности создают ограничения, при которых возможно существование лишь некоторых механизмов развития. Так, например, позвоночное не может обладать конечностями, работающими по принципу колеса, ввиду невозможности обеспечить кровоснабжение вращающегося органа. Следовательно, эволюция в этом направлении была исключена. Сходным образом структурные и гидродинамические факторы налагают запрет на существование комаров высотой 1,5 м.

Во-вторых, имеется ряд ограничений, связанных с **морфогенетическими правилами строения** (Oster et al., 1988). Бэтсон (Bateson, 1894) заметил, что если организмы отклоняются от своего нормального развития, то отклонения эти могут происходить лишь несколькими способами, число которых ограничено. Были проведены исследования с целью выявить структурные параметры, лежащие в основе строения организмов, и показать, как эти параметры могут модифицироваться в процессе эволюции. Некоторые наиболее наглядные примеры подобного рода ограничений дает анализ формирования конечностей у позвоночных. Холдер (Holder, 1983) указывает, что, несмотря на многочисленность

Запрещенные



Разрешенные

Современная
лошадьСовременный
олень

Ихтиозавр

Птерозавр

Рис. 23.9. Несколько «запрещенных» и несколько «разрешенных» планов строения конечностей четвероногих. (Из Thomson, 1988.)

модификаций конечностей позвоночных, происшедших на протяжении последних 300 млн. лет, некоторые модификации не были обнаружены ни разу (рис. 23.9). Кроме того, как показывает изучение природных популяций, число возможных способов изменения конечности относительно невелико (Wake, Larson, 1987). Если для данной среды лучше иметь длинную конечность, то плечевая кость становится длиннее. Никто никогда не видел две маленькие плечевые кости, соединенные последовательно, хотя нетрудно представить себе, какие селективные преимущества могло бы иметь такое расположение. Это свидетельствует о том, что схема строения подчиняется определенным правилам.

Основные правила формирования конечности были сформулированы Остером и др. (Oster et al., 1988). Эти авторы установили, что известные нам типы строения конечности, равно как и «запрещенные» других типов строения можно объяснить с привлечением реакционно-диффузионной модели. Как уже говорилось в гл. 17, эта модель исходит из того, что скопления хряща активно мобилизуют дополнительные клетки из окружающей области и подавляют формирование латеральных очагов конденсации. Число очагов зависит от геометрии ткани и от латерального ингибирования. Если сила ингибирования не изменяется, то должен возрасти объем ткани, чтобы сделать возможным образование двух очагов там, где прежде допускалось образование лишь одного. Когда этот объем достигает определенной пороговой величины (называемой порогом бифуркации), почка конечности может разветвиться сформировав два очага.

Результаты экспериментальных исследований и данные сравнительной анатомии подтверждают

эту математическую модель. Если обработать почку конечности аксолотля колхицином, подавляющим митоз, то развивается конечность меньших размеров. На таких конечностях пальцы не просто редуцируются, но редуцируются в определенном порядке, в соответствии с тем, чего следовало ожидать, исходя из математической модели и «запрещенных» морфологий. Более того, при редукции определенных пальцев получаются конечности, очень сходные с конечностями прогенетических саламандр; эти саламандры достигают зрелости при меньших размерах, чем их предки, а их конечности развиваются из почек конечностей меньших размеров (рис. 23.10; Alberch, Gale, 1983, 1985). Таким образом, использование реакционно-диффузионного механизма при построении конечностей, по-видимому, ограничивает возможности, возникающие во время развития; соблюдение этих правил допускает построение конечностей лишь нескольких типов.

Третью группу ограничений, сдерживающих эволюцию структур новых типов, составляют **филетические ограничения** (Gould, Lewontin, 1979), т. е. исторические ограничения, основанные на генетике развития данного организма. Например, коль скоро в результате индукционных взаимодействий возникает та или иная структура, начать весь процесс сызнова трудно. Так, хорда, которая все еще функционирует у взрослых протохордовых (Berrill, 1987), у птиц и млекопитающих считается рудиментом. Возможно, однако, что она в течение некоторого времени необходима зародышу, определяя развитие нервной трубки. Аналогичным образом Уоддингтон (Waddington, 1938) отмечал, что хотя пронефрос у куриного зародыша считается рудиментом, поскольку он неспособен концентрировать мочу, из него развивается зачаток мочеточника, индуцирующий формирование функциональной почки в процессе развития курицы.

Обзор филетических ограничений этого типа недавно опубликовали Рэфф и др. (Raff et al., 1991). Прежде считалось, что самые ранние стадии развития изменить труднее всего, поскольку в результате вмешательства зародыш либо погибнет, либо у него возникнет совершенно новый фенотип. Но данные, полученные в недавних работах (и переоценка старых), показали, что на ранних стадиях развития можно производить изменения, не нарушая дефинитивную форму. Изменяя морфогены у зародышей моллюсков, можно получить личинки новых типов, которые, метаморфизуя, все же дают моллюсков, а изменение цитоплазматических морфогенов у зародышей морских ежей может привести к развитию, протекающему без личиночной стадии, но приводящему тем не менее к формированию морских ежей. В сущности, глядя на позвоночных, можно видеть, что к знаменитой схеме фон Бэра ведет длительный

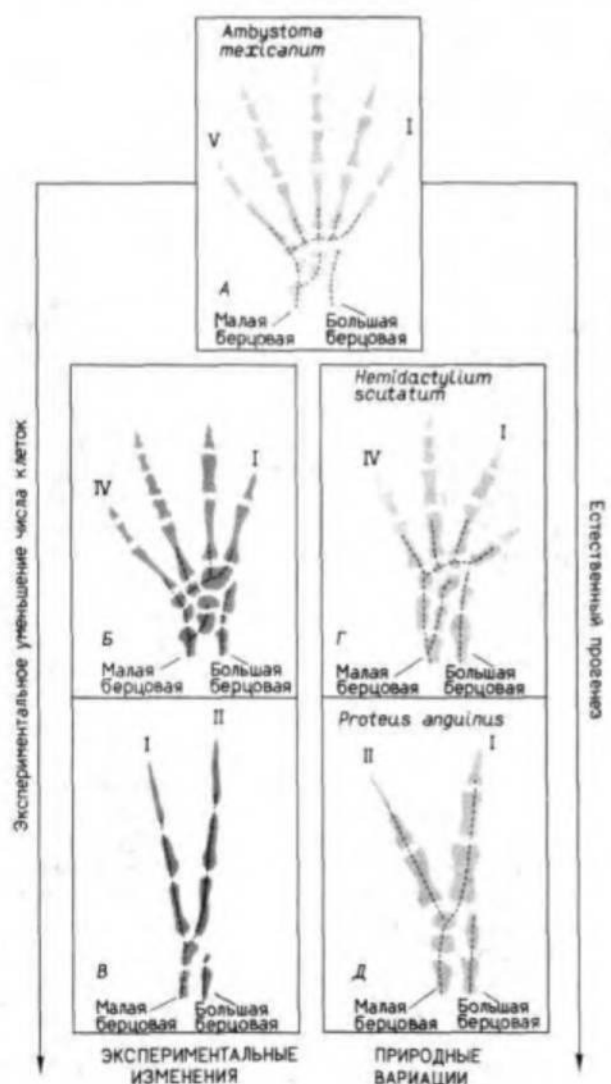


Рис. 23.10. Зависимость между числом клеток и числом пальцев у хвостатых амфибий. А. Задняя конечность аксолотля (*Ambystoma mexicanum*) с пятью симметричными пальцами. Б, В. Пальцы задней конечности аксолотля, развившиеся после инкубации почки конечности в колхицине для уменьшения числа клеток. Г, Д. Две амфибии (Г — *Hemidactylum scutatum*; Д — *Proteus anguinus*), возникшие в результате прогенеза; у обеих форм почка конечности меньше нормальной. Можно видеть параллельность экспериментальной и природной изменчивости, а общим знаменателем служит уменьшение числа клеток в почках конечностей. (По Oster et al., 1988.)

исторический процесс (см. гл. 5). Все позвоночные достигают этой особой стадии развития (называемой «фарингулой»), однако делают они это разными способами (рис. 23.11). Птицы, рептилии и рыбы доходят до этой стадии с помощью различных вариантов меробластического дробления, ам-

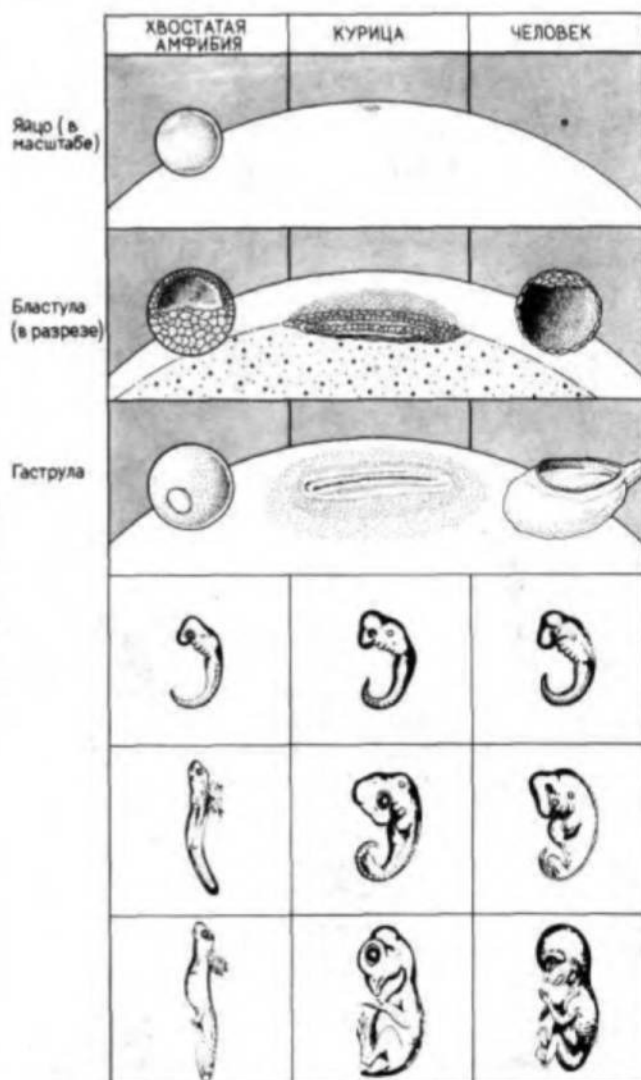


Рис. 23.11. «Узкое горлышко» на стадии «фарингулы» в развитии позвоночных. В нижней части рисунка приведена стандартная иллюстрация закона фон Бэра (см. гл. 5), демонстрирующая дивергенцию классов позвоночных после общей эмбриональной стадии. В верхней части рисунка изображено дивергентное начало развития. Сам фон Бэр (Von Baer, 1886) сознавал наличие такого «узкого горлышка». (По Elinson, 1987.)

фибии — в результате радиального голобластического дробления, а млекопитающие достигают ее после образования бластоцисты, хориона и амниона. Следовательно, самые ранние стадии развития, по-видимому, крайне пластичны. Сильно различаются также более поздние стадии, о чем убедительно

свидетельствуют резкие различия в фенотипе мышей, луны-рыбы, змей и тритонов. Что же касается *средних* стадий развития, то они, очевидно, несут в себе нечто постоянное.

По мнению Рэффа формирование новых планов строения тормозится отсутствием последовательностей глобальных индукций на протяжении стадии нейрулы (рис. 23.12). До наступления этого периода происходит несколько индукционных событий. По окончании нейруляции наблюдается огромное число таких событий, но большая их часть носит локальный характер. Однако на ранних стадиях органогенеза происходит одновременно несколько индукционных событий глобального характера. У позвоночных, если воспользоваться примером фон Бэра, на самых ранних стадиях устанавливаются оси зародыша и происходит гастрюляция. Широкомасш-

табная индукция еще не наступает. Кроме того, как показали Рэфф и др. (Henley et al., 1989), на этих стадиях зародыш обладает значительной способностью к регуляции, что допускает небольшие изменения в распределении морфогенов или расположении плоскостей дробления. После определения основного плана строения организма индукционные процессы происходят во всех его частях, однако они компартментализованы по дискретным органообразующим системам. Хрусталик индуцирует образование роговицы, а если это почему-либо не состоится, то нарушается только развитие глаза. Подобным же образом индукционные процессы определяют формирование в коже перьев, чешуй или волосяного покрова. В отсутствие индукции кожа или отдельный ее участок остается голой. Однако на ранних стадиях органогенеза эти взаимодействия носят более глобальный характер (Slack, 1983). На индукционные процессы в глазах может оказать воздействие нарушение нормального расположения сердца (см. гл. 16). Нарушение индукции мезодермы в определенном участке ведет к нарушениям развития почек, конечностей и хвоста. Именно на стадии органогенеза наступают ограничения эволюционных возможностей и закладываются особенности, характерные для типа позвоночных. Таким образом, коль скоро зародыш стал приобретать черты позвоночного, ему трудно превратиться во что-то другое.

Индуктивные взаимодействия и генерация новых структур

Помимо того что индукционные взаимодействия способны ограничивать развитие, они могут быть изменены, в результате чего возникают эволюционные новшества. Впервые такое предположение высказал Вальтер Гарстанг (Walter Garstang). В первые десятилетия XX в. связь между эмбриологией и эволюцией рассматривалась в свете «биогенетического закона» Эрнста Геккеля (см. «Дополнительные сведения и гипотезы», на стр. 309). Согласно этому закону, онтогенез (развитие нового индивидуума) повторяет филогенез (стадии, через которые проходит новый вид в процессе своего становления). В 1922 г. Гарстанг резко раскритиковал биогенетический «закон», показав, что он несовместим с мendelevской генетикой и эмбриологическими данными. Гарстанг поставил этот закон с ног на голову. По его мнению, онтогенез не повторяет филогенез, а создает его. Животные, возникшие на более поздних стадиях эволюции, появились не в результате добавления новых стадий к уже существующему филогенезу, а в результате мутаций, затрагивающих взаимодействия между модулями, уже имеющимися в плане строения данного организма: «Дом — это не

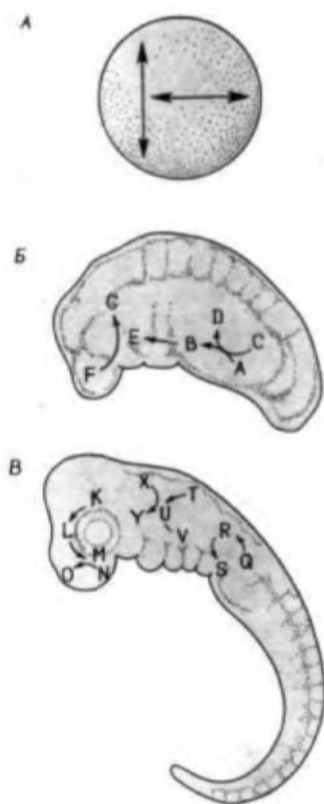


Рис. 23.12. Механизм «узкого горлышка» на стадии фарингулы в развитии позвоночных. А. На стадии дробления происходят глобальные взаимодействия, однако число их очень невелико и они главным образом определяют расположение осей зародыша. Б. В период от стадии нейрулы до стадии фарингулы число глобальных взаимодействий значительно увеличивается. После стадии фарингулы (В) число индуктивных взаимодействий становится еще больше, но их эффекты в основном локальны и не выходят за пределы их собственных полей. (R. A. Raff, личное сообщение).

коттедж с еще одним надстроенным этажом. Дом — это более высокая ступень в эволюции жилых помещений, и хотя он строится из таких же кирпичей, как коттедж, но все остальное — фундамент, деревянные конструкции, крыша — у него другое».

Таким образом, когда мы говорим, что современная однопалая лошадь произошла от пятипалого предка, мы имеем в виду, что в процессе эволюции лошади в дифференцировке мезодермы конечности в хондроциты, происходящей в эмбриогенезе, возникли наследуемые изменения. В таком аспекте эволюция предстает как результат наследственных изменений, воздействующих на развитие. Так обстоит дело и в том случае, когда данная мутация ведет к превращению зародыша рептилии в птицу или же к изменению цвета глаз у дрозофилы.

Поэтому, несмотря на то что существует примерно тридцать установившихся планов строения, изменения, возникающие в процессе развития, могут тем не менее вызывать глубокие эволюцион-

ные изменения. Изменения в индукционных процессах ведут к разнообразным морфогенетическим изменениям самыми разными путями. Такие изменения могут превратить чешую в перья (как у кур бентамской породы) или вызвать столь необыкновенные адаптации, как легкие птиц, желудок жвачных или бивни слонов (измененные резцы) и моржей (измененные верхние клыки). Все секреторные железы эпидермиса возникают в результате модификаций индукции одного и того же типа; так, млечные железы — это потовые железы, модифицированные в процессе эмбриогенеза. Подобным же образом устрашающие ряды акулиных зубов — модификация чешуй, покрывающих тело. Берк (Burke, 1989a) даже высказала мнение, что все вторичные индукции имеют общее происхождение (рис. 23.13).

Один из интересных моментов в схеме Берк относится к механизму, используемому для создания конечностей (апикальный эктодермальный гребень совместно с пластичной мезодермой, об-

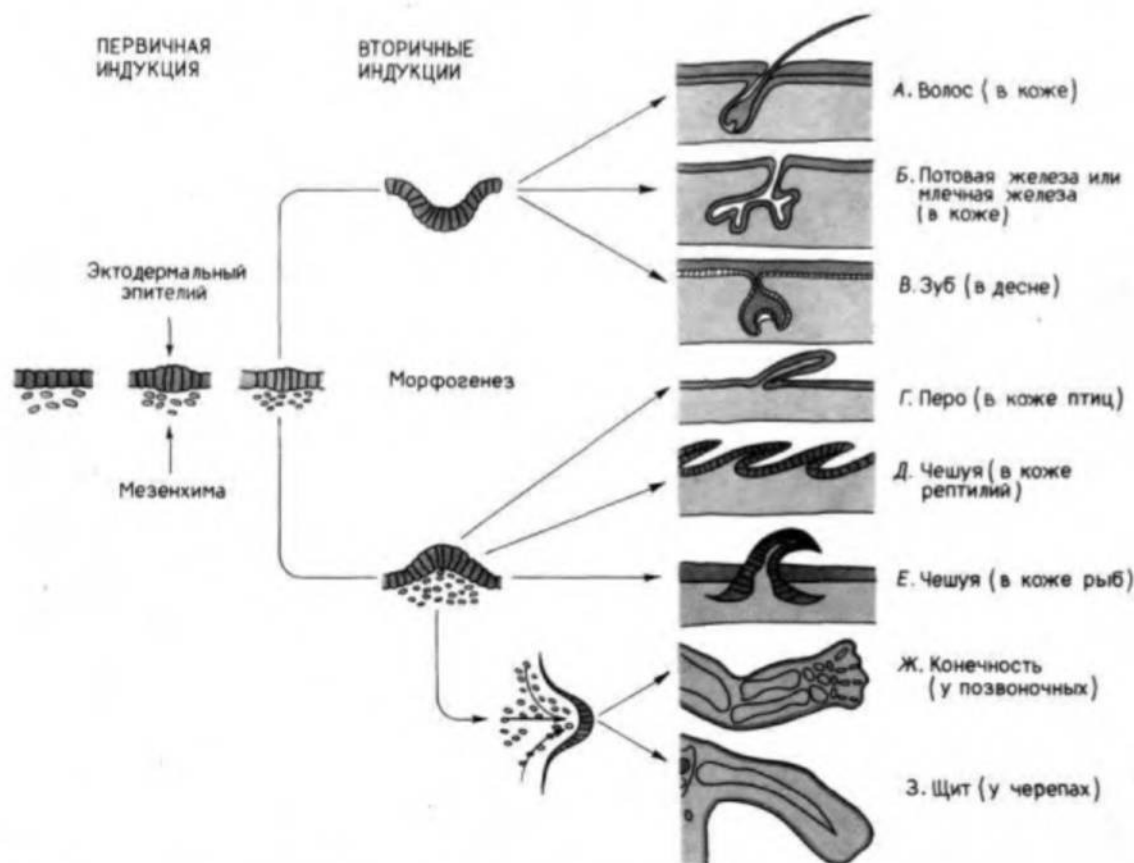


Рис. 23.13. Взаимосвязи между эпидермально-мезенхимными индукциями. Во время морфогенеза мезенхима может вызвать инвагинацию (А–В) или эвагинацию (Г–Е) прилежащего эпидермиса. В некоторых случаях, как, например, при формировании конечностей или панциря черепахи, мезенхима индуцирует формирование апикального эктодермального гребня (Ж, З). (По Burke, 1989a).

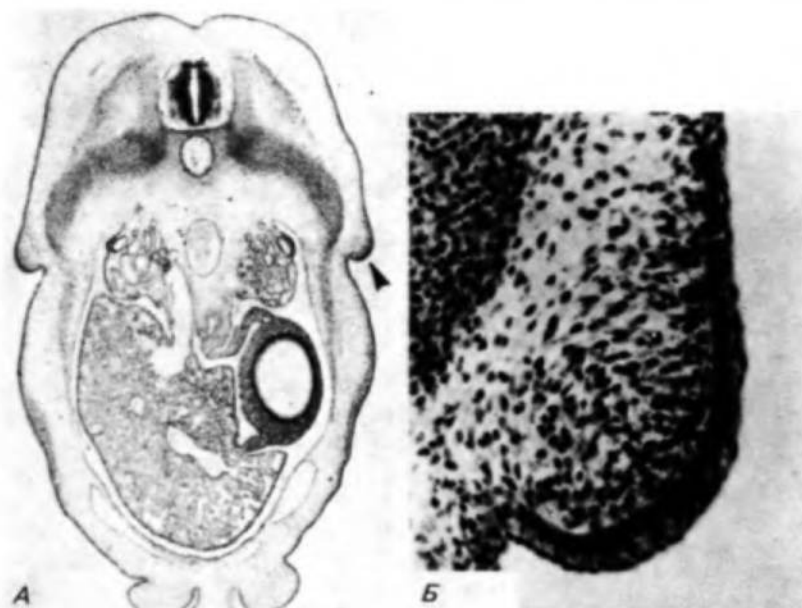


Рис. 23.14. Поперечный срез из области средней части туловища зародыша черепахи *Chelydra serpentina*. А. На границе между мезодермой сомита и мезодермой боковой пластинки образуется почка щита (показана стрелкой), которая обозначает теперь границу между дорсальной и вентральной сторонами. Утолщенные полоски мезодермы, тянущиеся из центра в область верхнего щита, представляют собой скопления клеток, из которых будут образовываться ребра. Б. Почка щита при большем увеличении. (Из Burke, 1989; фотографии с любезного разрешения автора.)

разующей хрящ). Она установила, что в одном семействе позвоночных этот же механизм используется в другом участке тела. Панцирь черепахи образуется в результате размещения эпителио-мезенхимного взаимодействия в новой области. Как показано на рис. 23.14, «панцирный» гребень образуется таким же образом, как и апикальный эктодермальный гребень почки конечностей. Характер пролиферации клеток и распределения таких адгезивных гликопротеидов, как N-МКА и фибронек-

тин, также сходны с тем, что наблюдается при формировании конечности (Burke, 1989b). Образование «дополнительных» лучей у иглокожих также вызывается индукцией. У морской звезды формирование пяти лучей индуцируется пятью выростами гидроцеля, воздействующими на эпидермис. Однако у шестилучевой морской звезды *Leptasterias hexactis* образуется шесть выростов, а у девятилучевых морских звезд *Solaster* – девять (Gemmell, 1912).

Дополнительные сведения и гипотезы Эрнст Геккель и биогенетический закон

Гибельный союз эмбриологии и эволюционной биологии был сфабрикован во второй половине XIX в. немецким эмбриологом и философом Эрнстом Геккелем (Ernst Haeckel). Основываясь на допущении, что законы, в соответствии с которыми появляются на нашей планете новые виды (филогенез), идентичны законам, по которым протекает развитие составляющих эти виды индивидуумов (онтогенез), Геккель рассматривал взрослые организмы как эмбриональные стадии организмов, более продвинувшихся в своем развитии. Эту точку зрения он сформулировал в своем «биогенетическом законе»: онтогенез повторяет филогенез. Иными словами, развитие более продвинутых видов проходит через стадии, представленные взрослыми организмами более примитивных видов.

С такой точки зрения создание каждого нового типа – это шаг к завершению развития человека. В ранние эпохи происходили только начальные стадии этого развития, в результате чего появились протисты и кишечнополостные. Затем к ним последовательно добавлялись все новые и новые стадии, пока не появился человек. Согласно Геккелю, достаточно трех законов, чтобы объяснить, как этот прогрессирующий онтогенез мог привести к возникновению новых видов. Во-первых, это закон соответствия: зигота человека, например, представлена «взрослой» стадией протистов; колониальные протисты соответствуют более продвинутой стадии развития зародыша – стадии бластулы; человеческому зародышу на стадии жаберных щелей соответствует взрослая рыба. Геккель даже постулировал

некий вымерший организм — *гастрею*, которая представляла собой двуслойный мешок, соответствующий стадии гаструлы, и которую он считал предком всех видов Metazoa. Во-вторых, это закон о надставках, или добавлениях, к конечным стадиям развития предка. Зародыш, развиваясь, дает новый вид, добавляя к уже имевшимся стадиям еще одну, новую стадию. Исходя из этого следует считать, что возникновение человека произошло в результате добавления новой стадии к развитию зародыша ближайшей к нему человекообразной обезьяны. Таким образом, это была линейная, а не ветвящаяся филогения. Наконец, третьим был закон усеечения, согласно которому предшествующее развитие могло быть урезано. Этот закон был необходим, чтобы предотвратить чрезмерную продолжительность периода внутриутробного развития. Он был необходим также потому, что эмбриологам не удалось обнаружить все указанные стадии у всех животных.

Представление об онтогенезе, повторяющем филогенез, не было дарвинизмом. В сущности синтез Геккеля был попыткой слить воедино работы Дарвина, Ламарка и Гёте. С точки зрения дарвинизма все современные виды имели общего предка. В результате филогения представляла собой сильно разветвленный куст. (Филогению сравнивали также с деревом, но у дерева имеется центральный ствол, который ученые нередко отождествляли с линией, ведущей к *Homo sapiens*.) Таким образом, человек не «выше» шимпанзе — просто у них имеется общий предок, от которого дивергировали обе группы. По схеме Геккеля животные движутся к новым уровням, добавляя к уже существующему эмбриональному развитию дополнительные статьи.

Интересно указать, что фон Бэр (von Baer, 1828) опроверг «биогенетический закон» еще до того, как Геккель его создал. Высмеивая дозволюционные формы этого закона, фон Бэр фантазировал, что могло бы получиться, если бы птицы вздумали писать учебники эмбриологии.

«Вообразите себе, что птицы, изучив собственное развитие, взялись бы исследовать строение взрослого млекопитающего и человека. Разве мы не прочитали бы в написанных ими учебниках физиологии следую-

щее: «Эти четверо- и двуногие животные во многом сходны с нашими собственными зародышами: кости их черепа не сращены; у них нет клюва, так же, как и у нас в первые пять или шесть дней насиживания; все их конечности очень сходны друг с другом, как и у нас в тот же самый период; на их теле нет ни одного настоящего пера, а лишь очень тонкие стержни, так что когда мы, уже оперившись, сидим в гнезде, мы уже достигли в своем развитии такого уровня, какого им никогда не удастся достичь... И эти-то млекопитающие, которые в течение столь долгого времени после появления на свет не в состоянии сами добывать себе пищу, которые никогда не смогут оторваться от земли, считают себя более высокоорганизованными, чем мы?»

Наблюдая за развитием, фон Бэр (см. гл. 5) заметил, что зародыши никогда не повторяют взрослые стадии других животных. Однако некоторые стадии у зародышей родственных животных сходны. Все позвоночные в процессе эмбрионального развития проходят через стадию, на которой у них имеются жаберные щели. У рыб они превращаются в настоящие жабры, тогда как у других позвоночных они преобразуются в элементы нижней челюсти или органы слуха. Но зародыши лягушки или человека никогда не проходят через стадию, на которой у них имелись бы структуры, типичные для взрослой рыбы. Однако, даже несмотря на то что фон Бэр и другие дискредитировали представление о рекапитуляции, она стала одной из самых популярных концепций в биологии¹.

¹ Еще менее критически, чем в биологии, «биогенетический закон» Геккеля был воспринят многими из только что начавших формироваться социальных наук. Первые антропологи поддерживали идею о том, что другие культуры «примитивны» в эмбриологическом смысле слова и что их развитие закончилось раньше, чем наше. Ведь еще до сих пор для определения таких культур пользуются словом «слаборазвитые». Геккель также чувствовал, что разные расы в пределах вида *Homo sapiens* можно расположить по их «рангу» в линейном порядке, и тем самым «научно» обосновал расовые предрассудки, достигшие кульминации в политике геноцида Третьего рейха (подробности см. Gasman, 1971; Gould, 1977a, b; Stein, 1988). Голд показал, что рекапитуляцию можно использовать в ограниченной степени при исследовании формирования родственных видов, но что ее нельзя рассматривать как универсальное явление.

Прогрессивное развитие корреляции

В тех случаях, когда в процессе эволюции морфология коренным образом перестраивается, необходимо выявить изменения в развитии, вызвавшие эту перестройку. Еще в 1872 г. Жорж Миварт (St. George Mivart) указывал, что простое изменение одной из структур данного организма не может

вызвать крупных эволюционных изменений. Для этого должна измениться целая группа структур. Берг (Berg, 1960) назвала эти одновременно изменяющиеся созвездия признаков «корреляционными плеядами». Механизм, создающий возможность для таких изменений, получил название **коррелированного развития** и занимал важное место в эмбриологических исследованиях начала века. Шпеман (Spe-

mann, 1901) написал большую работу на эту тему, поскольку она имела прямое отношение к его исследованиям по образованию хрусталика. Хрусталик, как утверждал Шпеман, развивается лишь при индуцирующем воздействии со стороны других тканей (таких, как глазной пузырь), формирующих структуры глаза. Аналогичным образом хрящ определяет расположение мышц, а мышцы – расположение нервных волокон. Томсон (Thomson, 1988) использовал эту концепцию для того, чтобы объяснить, как одна часть данного организма может измениться, не нарушая при этом координированности его строения в целом: если какая-либо структура изменяется, то она индуцирует одновременное изменение других структур. В этом и заключается принцип прогрессивного развития корреляции.

Одним из лучших примеров такого прогрессивного развития корреляции служит формирование нижней челюсти у позвоночных (см. обзор Gould, 1990). У первых позвоночных челюстей не было. С образованием хрящевых элементов, поддерживающих жаберные щели, первая пара этих элементов, по-видимому, окружив рот, образовала челюсти. Имеются убедительные данные, свидетельствующие о том, что челюстная дуга представляет собой модифицированные хрящевые жаберные дуги. Во-первых, обе эти кости образуются из клеток нервного гребня, а не из мезодермальной ткани (как большая часть костей). Во-вторых, обе структуры состоят из верхних и нижних отделов, которые сочленяются друг с другом. В-третьих, челюстная мускулатура, по-видимому, гомологична мускулатуре жаберных дуг. Таким образом, первое преобразование первой жаберной дуги состояло в превращении жаберного аппарата в челюстной аппарат. Но на этом дело не закончилось.

У челюстноротых верхний отдел второй жаберной дуги превратился в подвесок. Этот элемент обычно причленяет челюстную дугу к мозговой коробке (рис. 23.15). Как было показано в гл. 5, у млекопитающих подвесок преобразуется в одну из

слуховых косточек, находящихся в среднем ухе. Но ведь у рыб подвесок не используется для восприятия звука. Каким же образом элемент, поддерживающий жаберы, превратился в часть слухового аппарата? Когда рыбы вышли из воды на сушу, перед ними встала новая проблема – слышать в такой разреженной среде, как воздух. Подвесок прилегает к слуховой капсуле, а кость – превосходный материал для проведения звука. Таким образом, продолжая функционировать в качестве связующего элемента, подвесок начал также функционировать в качестве проводника звука (Clack, 1989). С изменением локомоции, строения челюсти и положения тела у наземных позвоночных мозговая коробка оказалась прочно соединенной с остальным черепом, и подвесок, утратив свою прежнюю роль, превратился в одну из слуховых косточек среднего уха – стремя.

Челюстные кости также претерпели изменения. Первая жаберная дуга превращается в челюстной аппарат. У амфибий, рептилий и птиц задняя часть хряща образует квадратную кость верхней челюсти и сочленовную кость нижней челюсти. Эти кости соединяются друг с другом, обеспечивая сочленение верхней и нижней челюстей. Однако у млекопитающих это сочленение происходит в другом месте (чешуйчатая и зубная кости), что «освобождает» квадратную и сочленовную кости и дает им возможность приобрести новые функции. Квадратная кость рептилий превратилась у млекопитающих в наковальню, а сочленовная в другую слуховую косточку – молоточек. Этот процесс был впервые описан Рейхертом (Reichert, 1837), когда он наблюдал на зародышах свиньи, что окостенение нижней челюсти происходит вокруг меккелева хряща, тогда как задняя часть меккелева хряща окостеневает, отделяется от остальной его части и входит в область среднего уха, превращаясь в молоточек (рис. 23.16).

Эти удивительные изменения в строении черепа в процессе эволюции от бесчелюстных до рыб, от рыб до амфибий и от рептилий до млекопитающих координировали с изменениями в строении челюстей, челюстной мускулатуры, в расположении и форме зубов и с модификациями черепного свода и уха (Kemp, 1982; Thomson, 1988). Поэтому создается впечатление, что какое-либо одно изменение может сопровождаться несколькими другими.

Данные, свидетельствующие о прогрессивном развитии корреляции

Описанные выше изменения в строении нижней челюсти и уха – результат развития и естественного отбора, происходивших сотни миллионов лет назад. Можно ли вызвать такие изменения у современных



Рис. 23.15. Гомологичность челюстей и жаберных дуг в черепе палеозойской акулы *Cobeledus aculetes*. (По Zangerl, Williams, 1975.)



Рис. 23.16. Жаберные дуги и их производные. А. Человеческий эмбрион в возрасте 4 нед (вид сбоку); видны жаберные дуги и их хрящевые производные. Б. Череп человека (вид сбоку); видно сочленение нижней челюсти с височной областью черепа. В. Череп крокодила (вид сбоку); сочленовная часть нижней челюсти соединяется с квадратной костью черепа. У млекопитающих квадратная кость превращается в наковальню и перемещается в среднее ухо. Сочленовная кость сохраняет контакт с квадратной костью, превращаясь в молоточек, также находящийся в среднем ухе. (А – по Langman, 1981.)

организмов путем соответствующих скрещиваний и селекции, с тем чтобы установить, не сопровождаются ли они прогрессивным развитием корреляции? К счастью, люди обладают большим талантом в отборе наследственных изменений, в которых участвуют клетки нервного гребня, образующие лобно-носовую и нижнечелюстную отростки. На рис. 23.17 изображены в профиль черепа собак разных пород. Каждая вариация генетически детерминирована: важно подчеркнуть, что каждая из них представляет собой гармоничную перестройку различных костей, причем все они согласованы друг с другом и с изменениями прикрепляющихся к ним мышц¹. В некоторых случаях, например у бульдогов, отбор ведется на широкую морду с очень небольшим углом между головой и нижней челюстью. Другие породы, как, например, колли, отбираются на узкую морду с вытянутой челюстью, сильно выступающей вперед. Несмотря на различия в форме или расположении костей, собаки любой породы двигают челюстями, вертят головой и лают. Одновременно с отбором скелетных элементов происходил отбор мышц, приводящих их в движение, нервных волокон, управляющих движениями мышц, и кровеносных сосудов, снабжающих мышцы.

Прогрессивное развитие корреляции было также продемонстрировано экспериментально. Повторяя

более ранние эксперименты Хампэ (Hampé, 1959), Герд Мюллер (Gerd Müller, 1989) вставлял в прехондрогенную почку задней конечности куриного зародыша в возрасте 3,5 сут кусочек золотой фольги,

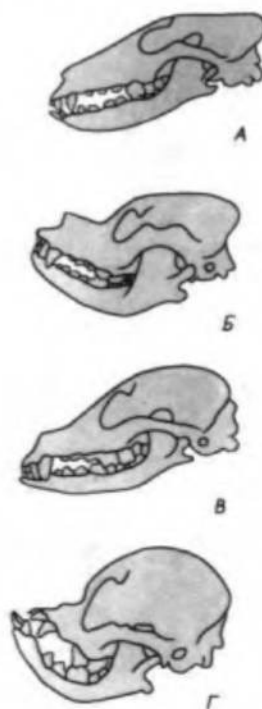


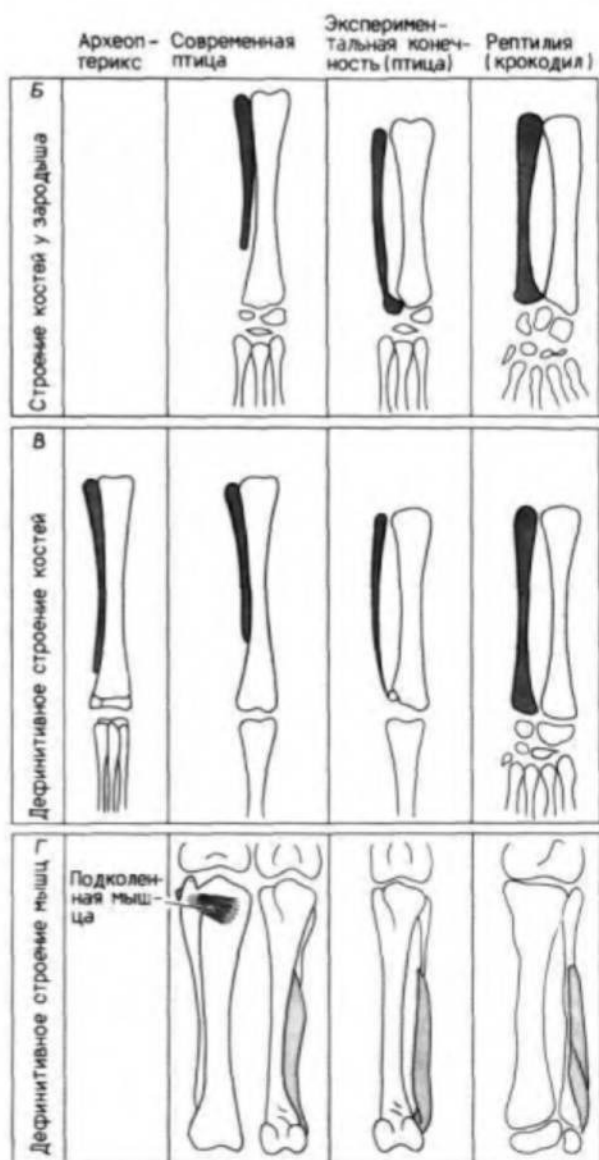
Рис. 23.17. Черепа собак разных пород. А. Борзая. Б. Сенбернар. В. Левретка. Г. Японский спаниель. Развитие челюстной мускулатуры коррелирует с развитием лицевой части черепа. (По Waddington, 1956.)

¹ Эта координация, однако, не всеобъемлюща. У собак с сильно укороченной лицевой частью черепа (таких, как бульдоги) развитие кожи не координировано с развитием костей, и поэтому она образует складки, свешивающиеся вниз (Stockard, 1941).



Рис. 23.18. Экспериментальные «атавизмы», вызванные изменением эмбриональных полей конечности. А. Отпечаток археоптерикса на известняке. Хорошо видны отпечатки перьев. Если бы не перья, то это зубастое животное, возможно, отнесли бы к рептилиям. Б–Г. Результаты экспериментов Мюллера с разделением поля задней конечности куриного зародыша с помощью золотой фольги. Б, В. Эмбриональная и definitiva формы кости, показывающие, что экспериментальная конечность цыпленка сохранила строение малой берцовой кости, характерное для современных рептилий и для ископаемого организма, который считают археоптериксом. Г. Некоторые изменения в мышцах, наблюдаемые у куриных зародышей, подвергнутых эксперименту. Подколенная мышца имеется у курицы, но отсутствует в конечностях рептилии и у экспериментального зародыша. Короткая малоберцовая мышца, которая обычно отходит от обеих берцовых костей, большой и малой, на оперированных конечностях приобретает рептильные черты, отходя только от малой берцовой кости. (Фотография с любезного разрешения В. А. Миллер/Biological Photo Service; Б–Г–по Müller, 1989.)

разделяя таким образом презумптивные участки большой и малой берцовых костей. В этих экспериментах были получены следующие результаты. Во-первых, большая берцовая кость укорачивается, а малая берцовая выгибается, сохраняя свою связь с *os fibulare*. У птиц соединения между этими костями обычно нет, но для рептилий оно характерно (рис. 23.18). Во-вторых, параллельно с изменениями костей изменяется и мускулатура задней конечности. Три из мышц, связанные с перечисленными костями, прикрепляются к ним типичным для рептилий образом. Поэтому создается впечатление, что экспериментальные манипуляции, изменяющие процесс развития одной части мезодермального поля, образующего конечность, изменяют также развитие других мезодермальных компонентов. Так же, как и в случае прогрессивного развития корреляции, наблюдаемой при развитии лицевой части черепа, все эти изменения, по-видимому, обусловлены взаимодействиями в пределах некоего поля, в данном случае – поля задней конечности куриного зародыша. Эффекты эти не носят глобального характера



и могут происходить независимо от развития других частей тела.

В некоторых случаях прогрессивное развитие корреляции представляет собой, возможно, плейотропный эффект, имеющий единое происхождение. Это может быть какая-то «ключевая адаптация», влекущая за собой изменения других тканей (Larson et al., 1981). Если, например, кости конечности или ротового аппарата изменяются, то одновременно происходят изменения в тех участках мезодермы, из которых образуются мышцы, связанные с этими костями. Подобные коррелированные изменения могут быть вызваны либо каким-то одним индуктором, воздействующим на клетки обоих типов, либо

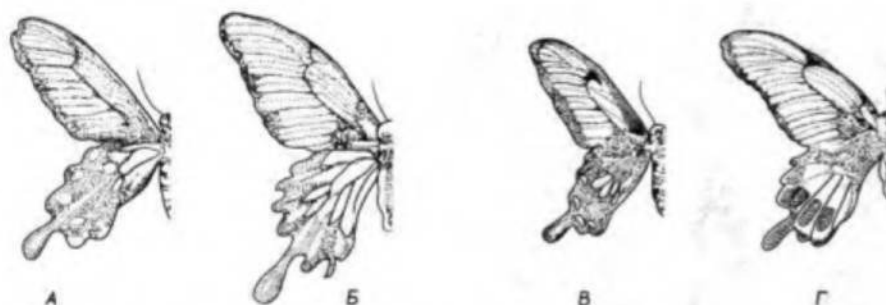


Рис. 23.19. Мимикрия у *P. memnon*. Несъедобная модель *A. coon* (А) и подражающая ей *P. memnon* (Б). Несъедобная модель *A. aristolochia* (В) и подражающая ей другая генетическая форма *P. memnon* (Г). Способность *P. memnon* подражать и одному, и другому виду определяется аллелями, образующими генный комплекс, который состоит из нескольких сцепленных локусов. (По Clarke et al., 1968).

целым каскадом индукций, когда мышцы, прикрепляющиеся к верхней части кости, индуцируются к этому самой костью. В других случаях прогрессивное развитие корреляции, возможно, подвергалось отбору на уровне генных транслокаций. Один такой пример касается бэтсоновской мимикрии у парусника *Papilio memnon* (Clarke et al., 1968). Эта бабочка — лакомый кусочек для нескольких видов птиц, но ей удается выжить благодаря тому, что она подражает в своей окраске двум сравнительно малосъедобным бабочкам *Atrophaneura coon* и *A. aristolochiae* (рис. 23.19). *P. memnon* содержит «супергенный» комплекс, в состав которого входят по крайней мере пять тесно сцепленных между собой генов. Один локус контролирует наличие (Т) или отсутствие (t) «хвостиков» на конце заднего крыла. Второй ген контролирует окраску брюшка — желтую (B^Y), с желтым кончиком (b^Y) или черную (b). Третий ген обуславливает узор окраски заднего крыла, подражающей крыльям *A. coon* (W^{al}) или *A. aristolochiae* (W^d). Четвертый и пятый гены этого кластера контролируют узор окраски передних крыльев и цвет пятна у их основания. В каждой изученной популяции *P. memnon* в этом локусе находятся разные аллели, дающие бабочке возможность подражать несъедобной модели. Например, в Гонконге *P. memnon* несет кластер генов $TW^{al}B^Y$, детерминирующий развитие бабочки с «хвостиками», брюшко и задние крылья которой окрашены так, как у представителей местных популяций *A. aristolochiae*. Это сочетание признаков наследуется, однако, как нечто единое, поскольку под действием отбора определяющие их гены оказались сцепленными так тесно, что рекомбинации возникают относительно редко. Благодаря этому бабочка полностью подражает своей модели. Если подражание касается только какого-то одного аспекта, то оно менее эффективно. Таким образом, коррелированная изменчивость у некоторых видов (например, у собак) создается, возможно, в результате взаимодействий между координирован-

ными компонентами в процессе эмбрионального развития, тогда как у других видов (таких, как описанные здесь махаоны) коррелированная изменчивость возникает на генетическом уровне.

Гетерохрония и аллометрия

Гетерохронией называют происходящий от одного поколения к другому сдвиг в относительных сроках каких-либо двух процессов развития в течение эмбриогенеза. Мы уже встречались с этой концепцией при обсуждении неотении и прогенеза у хвостатых амфибий (гл. 19). Гетерохрония может быть вызвана разными причинами. У амфибий, навсегда остающихся на личиночной стадии, гетерохрония возникает в результате генных мутаций в системе индукция — компетенция. Другие гетерохронические фенотипы создаются в результате гетерохронической экспрессии определенных генов. Непосредственное развитие зачатка взрослого морского ежа (гл. 19) обусловлено ранней инициацией экспрессии генов взрослой особи и подавлением экспрессии личиночных генов (Raff, Wray, 1989). Как уже обсуждалось выше, гетерохрония может оказывать влияние на эволюцию разными способами. Она может «вернуть» организм в личиночное состояние, свободное от специализированных адаптаций взрослой стадии. Гетерохрония может также придать взрослому организму личиночные признаки, такие, как небольшие размеры и перепончатые лапы древесных хвостатых амфибий или рост мозга новорожденного младенца со скоростью, характерной для плода.

Аллометрия наблюдается в тех случаях, когда разные части организма растут с различными скоростями. Как было показано в гл. 20, аллометрия может играть важную роль, формируя разнообразные варианты в пределах данного плана строения. Такие дифференциальные изменения роста могут возникать в результате изменения чувствительности

клетки-мишени к факторам роста или же изменения количества вырабатываемых факторов роста. И в этом случае в качестве иллюстрации можно использовать конечности позвоночных. Локальные различия в хондроцитах приводят к тому, что у лошади средний палец растет в 1,4 раза быстрее, чем боковые (Wolpert, 1983). Это означает, что по мере того как в процессе эволюции лошадь увеличивалась в размерах, такое региональное различие привело к превращению ноги лошади из трехпалой в однопалую. Особенно интересный пример аллометрии в эволюции дает развитие черепа. У очень ранних (4–5 мм) зародышей кита ноздри занимают обычное для млекопитающих положение. Однако невероятный рост межчелюстных и верхнечелюстных костей выдвигает вперед лобную кость и сдвигает ноздри на верхнюю поверхность головы (рис. 23.20). Новое положение ноздрей (дыхала) создает возможность для развития мощного и высокоспециализированного челюстного аппарата, а также возможность дышать, когда кит находится у поверхности воды (Slijper, 1962).

Аллометрия может также создавать эволюционные новшества путем мелких постоянно нарастающих изменений, которые в конечном итоге переступают через некий порог (называемый иногда точкой бифуркации). При этом количественное изменение переходит в конце концов в изменение качественное. Считается, что именно таким образом возникли наружные выстланные шерстью защитные мешки

гоферов и кенгуровых крыс, обитающих в пустынях. Наружные мешки отличаются от внутренних тем, что, во-первых, они выстланы шерстью, а, во-вторых, не имеют внутренней связи с ротовой полостью. Благодаря этому обладатели таких мешков могут складывать в них семена, не опасаясь их высыхания. Брыльски и Холл (Brylski, Hall, 1988) разрезали головы зародышей этих животных и изучали развитие наружных защитных мешков. Сопоставляя полученные данные с результатами изучения развития внутренних защитных мешков (например, у хомяков), эти авторы обнаружили, что наружные и внутренние мешки развиваются весьма сходным образом. Как те, так и другие закладываются у зародыша в виде карманов щечного эпителия, выступающих в лицевую мезенхиму (рис. 23.21). У животных с внутренними защитными мешками эти выступы не выходят за пределы щек. Однако в случае наружных мешков при вытягивании морды в длину выступы подтягиваются в область губы. Когда губной эпителий выворачивается из ротовой полости наружу, вместе с ним выворачиваются и эти карманы. То, что было внутри, оказывается снаружи. Шерстная выстилка, вероятно, образуется в результате соприкосновения наружных карманов с кожной мезенхимой, способной индуцировать образование волос в эпителии (гл. 16). Такой мешок не сообщается посредством внутреннего отверстия с ротовой полостью. Фактически переход от внутреннего к наружному мешку —

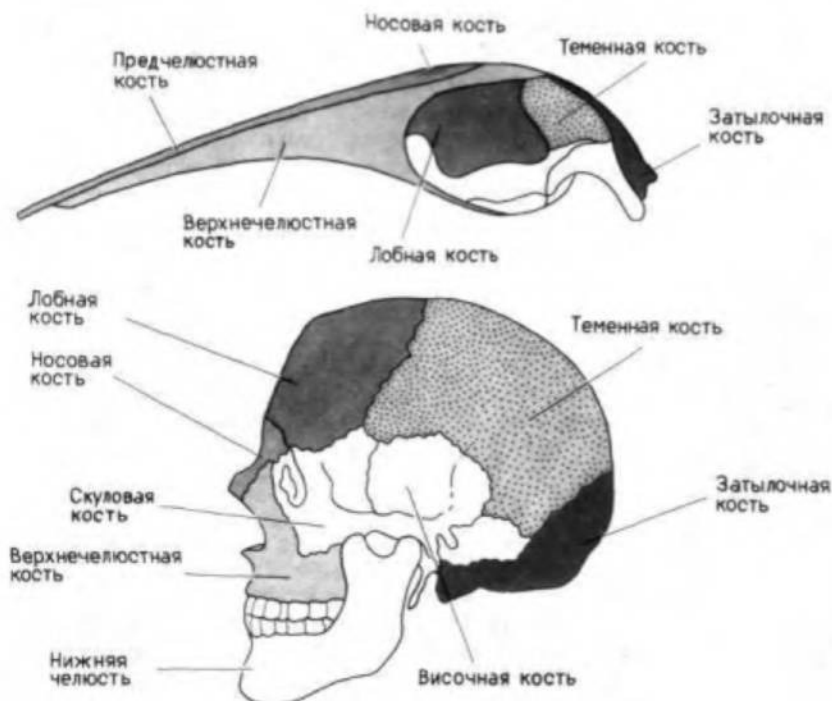


Рис. 23.20. Аллометрический рост костей черепа у кита. Верхняя челюсть выдвинулась вперед, в результате чего ноздри сместились на верхнюю поверхность черепа. Для сравнения представлен череп человека. (Межчелюстные кости имеются у зародыша человека на ранних стадиях развития, но к концу третьего месяца беременности они сливаются с верхнечелюстными. Одним из тех, кто обнаружил наличие у человека межчелюстных костей, был Вольфганг Гёте, сделавший это открытие в 1786 г.) (По Slijper, 1962.)



Рис. 23.21. Поперечный срез через переднюю область зародыша западного гофера (*Thomomys*), на котором видно переднее отверстие защечного мешка (1) и непрерывное соединение этого мешка (на данной стадии) и ротовой полости (2). 3 — меккелев хрящ; 4 — язык. (Из Brylski, Hall, 1988; фотография с любезного разрешения этих авторов.)

это один из порогов. Расположение эпителиального выпячивания (спереди или сзади) определяет, будет ли защежный мешок внутренним или наружным. «Переходной стадии» с двумя отверстиями — одним внутрь, а другим наружу — не существует¹. Можно представить себе, что возникновение наружного защежного мешка было вызвано случайными мутациями, сдвинувшими выпячивание эпителия не-

¹ Отсутствие переходных форм нередко используется креационистами в качестве аргумента при критике теории эволюции. Например, при переходе от рептилий к млекопитающим две из трех костей, образующих нижнюю челюсть у рептилий, превратились в наковальню и молоточек, так что в нижней челюсти осталась лишь одна кость (зубная). Сторонник креационизма Гиш (Gish, 1973) считает такое положение вещей невозможным, поскольку не найдено ни одного ископаемого животного, у которого было бы две или три кости в нижней челюсти и две или три слуховые косточки. Он заявляет, что у такого животного нижняя челюсть должна была бы волочиться по земле. Однако существование именно такой переходной формы вовсе не обязательно (описано свыше десятка переходных форм между черепами рептилий и млекопитающих). Хопсон (Hopson, 1966), основываясь на эмбриологических соображениях, показал, что кости нижней челюсти могли разделиться и использоваться для разных функций, а Ромер (Romer, 1970) обнаружил ископаемых рептилий, у которых новое сочленение нижней челюсти уже функционировало, тогда как прежние кости становились бесполезными.

сколько вперед. В условиях пустыни подобный признак мог бы быть подхвачен отбором. По мнению ван Валена (Van Valen, 1976), эволюцию можно определить как «регуляцию развития со стороны экологии».

Передача компетенции

Другой возможный способ использования индукции для создания изменений в развитии, которые могли бы подвергаться отбору в процессе эволюции, — это **передача компетенции**. Идея о передаче компетенции, которую популяризировали К. Уоддингтон и И. И. Шмальгаузен, позволяет объяснить сохранение новых фенотипов, которым благоприятствует отбор. В 1936 г. Уоддингтон, Нидхэм и Брайше сделали неожиданное открытие. Они надеялись выделить из хорды некий специфический фактор, который был бы способен индуцировать образование нервных пластинок, а вместо этого обнаружили, что способностью к такой индукции обладает множество различных природных и синтетических соединений. Это заставило их по-новому истолковать свои данные и высказать мнение, что подлинный нейтрализующий фактор находится в покоящемся состоянии в компетентной эктодерме и что существует ряд разнообразных веществ, способных освободить этот фактор от его ингибитора. Затем Уоддингтон перенес главное внимание с индуцирующих клеток на компетентные клетки. Он полагал, что в роли индуктора могут выступать самые разные вещества, тогда как компетентная ткань должна содержать в себе нечто, что позволяет ей реагировать на эти вещества. Индуктор дает лишь толчок (Waddington, 1940). Генетическому контролю подвергается только компетенция, которая и несет ответственность за детали развития.

Поскольку компетенция может быть достигнута независимо от данного индуктора и поскольку различные соединения индуцируют одни и те же процессы развития в данной компетентной ткани, Уоддингтон высказал предположение, что данная компетентная ткань может передавать свою способность реагировать от одного индуцирующего фактора другому. Кроме того, эти индукторы могут быть как внутренними, так и внешними. Внешние индукторы уже были известны, и в качестве примера Уоддингтон воспользовался определением пола у *Bonellia* (гл. 21). Уоддингтон отметил также, что подобным примером может служить способность к образованию мозолей на тех участках кожи, которые постоянно трутся о грунт. В этом случае клетки кожи проявляют способность к образованию мозолей, если их индуцировать трением. Гены, очевидно, реагируют на индуцирующее воздействие, вызывая пролиферацию клеток, образующих мозолистую

структуру. Подобных примеров образования мозолей, индуцируемого факторами среды, очень много. А вот страус появляется на свет с мозолями. Уоддингтон высказал предположение, что поскольку клетки его кожи уже компетентны реагировать на индуцирующее воздействие трения, их можно индуцировать и другими факторами. В процессе эволюции у страусов появилась мутация, определившая способность клеток кожи реагировать на какое-то вещество, содержащееся в зародыше. Таким образом, признак, который был индуцирован средой, стал контролироваться особым геном и, следовательно, мог подвергаться отбору. Уоддингтон назвал это явление «генетической ассимиляцией».

Доказать передачу компетенции очень трудно, поскольку при этом надо сначала установить, что данная ткань была способна реагировать определенным образом на средовые индукторы, а затем — что в процессе эволюции у нее возник рецептор для какого-то внутреннего стимула, который направил дифференцировку этой клетки по тому же пути. Как и во многом другом, относящемся к эволюционной теории, для того чтобы доказать возможность такой эволюции, приходится привлекать косвенные данные. Имеется, однако, несколько кандидатов на роль организмов, в эволюции которых происходила передача компетенции.

ВОЗМОЖНАЯ ПЕРЕДАЧА КОМПЕТЕНЦИИ В ПОПУЛЯЦИЯХ МУРАВЬЕВ. Одним примером передачи компетенции от средового стимула к геномному служит эволюция разделения на касты у муравьев. Муравьиная семья состоит преимущественно из самок, а самки отличаются резко выраженным полиморфизмом. Два главных типа самок представлены рабочими особями и репродуктивными самками. Репродуктивная самка — это потенциальная матка. При более высокой специализации из касты рабочих особей выделяются более крупные особи — солдаты. Касты определяются уровнем ювенильного гормона у развивающейся личинки. Если уровень этого гормона высокий, то рост личинки носит аллометрический характер и у нее либо образуются более крупные челюсти, либо развиваются половые органы. Содержание в организме личинки ювенильного гормона, возможно, зависит от получаемой ею пищи или же регулируется материнскими гормонами, оказывающими свое действие в процессе эмбриогенеза.

Механизмы определения касты в процессе развития изучала Дазна Вилер (Diana Wheeler, 1986); полученные ею данные суммированы на рис. 23.22. У большинства видов муравьев личинки бипотенциальны почти до окукливания. У *Myrmica rubra* бипотенциальными остаются только те личинки, которые перезимовали. По прошествии зимы матка стимулирует рабочих таким образом, чтобы они не

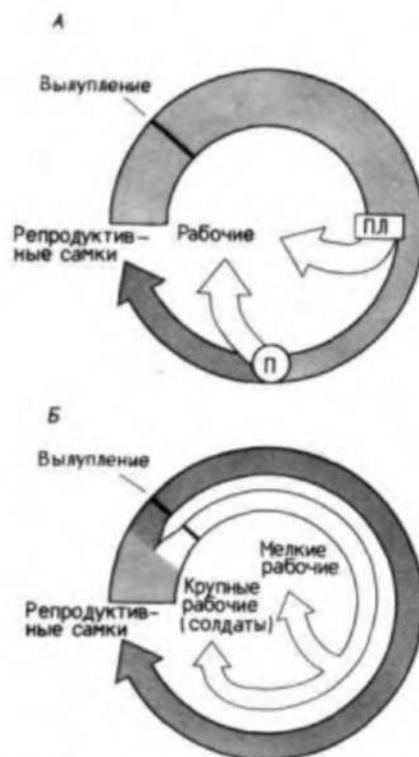


Рис. 23.22. Возможная передача компетенции при формировании репродуктивной самки (матки) у муравьев. Светлые участки представляют бипотенциальных особей, т. е. особей, которые могут превратиться либо в рабочих, либо в репродуктивных самок. П — переключатель питания, регулируемый средой, в которой находятся личинки. А. *Myrmica rubra*, у которых бипотенциальность сохраняют только перезимовавшие личинки (ПЛ). Б. *Pheidole pallidula*, у которых матка контролирует детерминацию репродуктивных самок с помощью гормонов, действующих во время эмбриогенеза. (По Wheeler, 1986.)

докармливали личинок последнего возраста. Это означает, что до тех пор, пока в семье есть матка, возникновение новых маток невозможно. Если личинок кормить, то они могут превратиться в репродуктивных самок. Таким образом, личинки сохраняют бипотенциальность почти до конца последнего возраста.

У *Pheidole pallidula* матки, по-видимому, контролируют определение касты во время эмбриогенеза. У этого вида нет бипотенциальных личинок, поскольку каста каждого данного индивидуума детерминируется на эмбриональной стадии. Репродуктивные самки развиваются из яиц, отложенных сразу после окончания зимовки, а поэтому считается, что яйца, отложенные в разные сроки, различны по своим биохимическим свойствам. Хотя вопрос о том, чем отличаются яйца, дающие репродуктивных самок, от яиц, дающих рабочих, вызывает

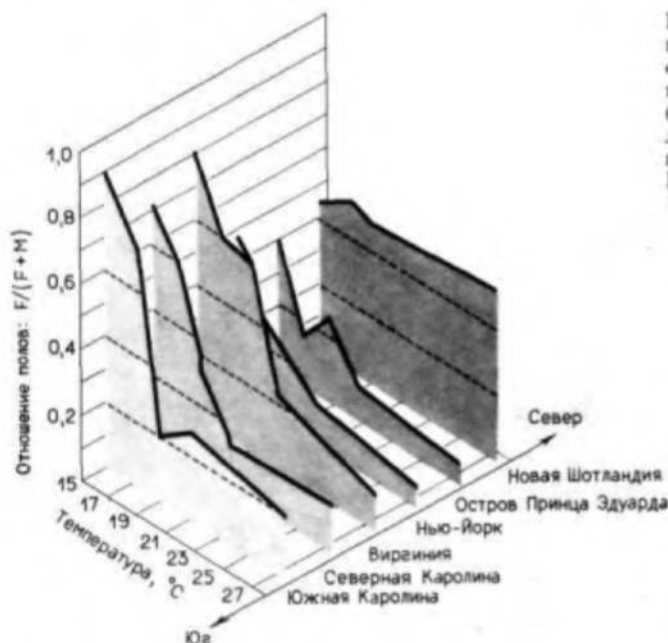


Рис. 23.23. Зависимость между температурой и соотношением полов $[F/(F + M)]$ в период, когда происходит определение пола у рыбы *Menidia menidia*. У экземпляров, пойманных в самой северной части ареала *M. menidia* (Новая Шотландия), температура мало влияет на определение пола. Влияние среды на зародышей рыб, пойманных южнее (особенно в областях от Виргинии до Южной Каролины) было выражено сильнее. (Из Conover, Heins, 1987.)

разногласия, перед нами пример детерминации касты, происходящей внутри самого зародыша.

Как показывает пример *Phaidole*, детерминация, зависящая от среды, может быть интернализирована. Следует также иметь в виду, что у этих муравьев касте рабочих присущ полиморфизм. Среди них сформировались солдаты — крупные рабочие. Уилсон (Wilson, 1971) указывал, что из 260 известных нам родов муравьев только у семи среди рабочих наблюдается полный диморфизм. Если полиморфизм рабочих особей дает преимущество (Oster, Wilson, 1978), то почему он не возникает и в других родах муравьев? По мнению Уиллера, полиморфизм у рабочих проявляется только в тех группах, в которых детерминация репродуктивных самок наступает очень рано. После того как произойдет детерминация, становится возможным варьировать питание личинок, создавая разные касты рабочих.

ВОЗМОЖНАЯ ПЕРЕДАЧА КОМПЕТЕНЦИИ ПРИ ДЕТЕРМИНАЦИИ ПОЛА У РЫБ. Если компетентная ткань способна заменять средовые индукторы, воздействующие на развитие, на внутренние индукторы, закодированные в геноме, то можно допустить и обратное. Можно ожидать, что при некоторых селективных условиях генетическая индукция заменяется средовой индукцией. Возможно, что именно это имеет место при некоторых типах детерминации пола под действием факторов среды. Такая детерминация пола наблюдается у ряда беспозвоночных и позвоночных — рыб, амфибий и рептилий (гл. 21). Чарнов и Булл (Charnov, Bull, 1977) утверждали, что в пятнистых местообитаниях детерминация пола

под действием среды должна носить адаптивный характер, поскольку в одних участках таких местообитаний выгоднее быть самцом, а в других выгоднее быть самкой. Коновер и Хейнс (Conover, Heins, 1986) приводят данные, указывающие на то, что у некоторых рыб крупные размеры самок создают преимущество, поскольку это обеспечивает более высокую плодовитость. Самки атерины рода *Menidia*, вылупившиеся из икры в начале сезона размножения, обладают преимуществом, так как при этом период нагула оказывается у них более длительным и они достигают больших размеров. Для самцов размеры не имеют значения. Коновер и Хейнс установили, что в южной части ареала *Menidia* самки действительно вылупляются в начале сезона размножения. Температура, очевидно, играет во всем этом важную роль. Однако у того же вида вблизи северных границ его ареала никакой детерминации пола, обусловленной факторами среды, не наблюдается; соотношение полов при любой температуре равно 1:1 (рис. 23.23). По мнению авторов, это объясняется тем, что у популяций, обитающих в северных частях ареала, период нагула очень короткий, так что раннее вылупление не дает самке никакого преимущества. Таким образом, у этого вида рыб детерминация пола зависит от средовых факторов в тех областях, где такая детерминация имеет адаптивное значение, в других же частях ареала пол детерминируется генотипически. И опять, как видим, половой фенотип может индуцироваться средой или же детерминироваться геномом, как у большинства млекопитающих.

Задержка имплантации

Один вероятный пример передачи компетенции от одного индуктора другому относится к виду, у одних подвидов которого индуктивные стимулы являются внутренними, тогда как у других подвидов тот же самый процесс контролируется другим индуктором. Это явление можно наблюдать при имплантации бластоцист в матку у пятнистого скунса. У восточного подвида этого скунса, *Spirogale putorius*, имплантация протекает нормально. Спаривание происходит в апреле, беременность продолжается около двух месяцев, и детеныши рождаются в июне или июле, когда пищи для них много. Западный же подвид обитает на больших высотах и не может спариваться в апреле. Западные скунсы спариваются в сентябре. Если бы у этого подвида зародыши развивались с такой же скоростью, как у восточного, и беременность продолжалась два

месяца, то детеныши рождались бы в ноябре и декабре, и им пришлось бы голодать. Однако у западного подвида в процессе эволюции выработалась **задержка имплантации**. Несмотря на то что оплодотворение и ранние стадии дробления начинаются в сентябре, имплантация бластоцисты задерживается до апреля (т.е. происходит в то же самое время, что и у настоящего подвида). Продолжительность этой задержки, вероятно, регулируется длиной дня, поскольку у ослепленных скунсов она больше. (У других животных с задержкой имплантации фотопериод иногда воспринимается эпифизом.) К концу периода задержки у самки начинает вырабатываться прогестерон, под действием которого матка становится способной принять бластоцисту, ожидающую этого 210–230 сут (Renfree, 1982). Задержка имплантации составляет часть жизненного цикла многих млекопитающих.

Дополнительные сведения и гипотезы

Передача компетенции путем переноса рецепторов

Согласно Уоддингтону, у компетентной клетки в процессе эволюции выработался путь реакции на индуктор, контролируемый генетически. Когда компетенция клетки передается от одного индуктора другому, рецептор, воспринимающий данный сигнал, изменяется, но отрезок пути, дистальный по отношению к этому сигналу, остается прежним. Мы можем убедиться в этом по компетенциям различных клеток к митогенным факторам. Вспомним описанное в гл. 16 деление компетентного В-лимфоцита. При связывании антигена своими поверхностными иммуноглобулинами В-клетка приобретает поверхностные рецепторы для факторов роста. Иными словами, специфическая компетенция создается рецептором антигена. Если презентуется другой антиген, то компетенцию к делению и дифференцировке в плазматические клетки, вырабатывающие антитела, приобретает другая группа В-клеток. Таким образом, связывание антигена с антигенными рецепторами В-клеток запускает *созданную заранее программу* (preset program) деления и дифференцировки клеток.

Передача компетенции происходит также на пути клеточного деления В-клеток. G-белок, связанный с иммуноглобулином на клеточной поверхности, активирует фосфолипазу С. Фосфолипаза С расщепляет фосфатидилинозитолбисфосфат (ФИФ₂) на инозитолтрифосфат, который высвобождает кальций из эндоплазматического ретикула, и диацилглицерол, активирующий протеинкиназу С, что приводит к повышению внутриклеточного рН. Сов-

местно эти сигналы активируют ядерные протоонкогены, инициирующие клеточное деление. Интересно, что те же самые реакции происходят при соединении антигенов с рецепторами Т-клеток. Таким образом, создается впечатление, что клеточное деление как В-, так и Т-лимфоцитов следует по одному и тому же пути. Точно так же некоторые нейромодуляторы, такие, как серотонин и ацетилхолин, оказывают свое действие, активируя G-белки и запуская аналогичную последовательность реакций. Реакции одни и те же. Изменяется лишь поверхностный рецептор клеток.

Однако эта история должна быть нам уже знакома. В сущности лимфоциты и нейроны стали на этот путь далеко не первыми; ибо этот путь – тот ряд реакций, с помощью которых происходит деление каждой клетки тела. Известна более общая схема, в которой с рецептором фактора роста связывается фактор роста (гл. 20). Этот рецептор в свою очередь активирует G-белок, который активирует фосфолипазу С, приводящую в движение весь процесс. Но и на этом дело не кончается. Такой же путь прослеживается в реакциях, активирующих оплодотворенное яйцо (гл. 2). В этом случае в роли активатора выступает не антиген и не пептидный фактор роста, а спермий. Итак, этот путь не зависит от природы стимула, инициирующего клеточное деление. В мембрану можно вводить различные рецепторы, в результате чего этот путь становится способным активироваться новыми соединениями. В самом деле, если активировать яйца *Xenopus*, вводя в них мРНК,

детерминирующие рецепторы ацетилхолина и серотонина, то при воздействии на яйца этих медиаторов они начинают делиться (Kline et al., 1988). В этом случае внутренний индуктор (нейромедиатор) заменил собой внешний индуктор (спермий)

Новый эволюционный синтез

Одним из важных событий в развитии эволюционной теории был «современный синтез» эволюционной биологии и менделевской генетики (Mayr, Provine, 1980). Одним из результатов этого объединения, достигнутого с большим трудом, было новое определение эволюции как изменения частоты генов в популяции с течением времени. «Поскольку эволюция — это изменение генетического состава популяций — писал Добржанский (Dobzhansky, 1937), — механизмы эволюции представляют собой проблемы популяционной генетики». Это определение встретило широкую поддержку в США, Англии и бывшем Советском Союзе; тем самым морфологии и эмбриологии в современной эволюционной теории отводилась лишь небольшая роль (Adams, 1991). Крупные морфологические изменения, наблюдаемые на протяжении эволюционной истории, можно объяснить накоплением небольших генетических изменений. Иными словами, макроэволюцию (значительные морфологические различия, существующие между видами, классами и типами) можно объяснить механизмами микроэволюции — «различной адаптивной ценностью генотипов или отклонениями от случайного спаривания или одновременным действием этих двух факторов» (Torrey, Feduccia, 1979).

Однако у этой точки зрения были свои критики (свои «еретики», как сказали бы некоторые). Быть может, главным среди них был Рихард Гольдшмидт. Гольдшмидт начинает свою книгу «Материальные основы эволюции» (Goldschmidt, 1940), бросив вызов «современному синтезу». Этот синтез, возможно, способен объяснить *выживание* наиболее приспособленных, но не их *появление*.

Я хочу предложить приверженцам строго дарвинистского взгляда, который мы здесь обсуждаем, попытаться объяснить накоплением и отбором мелких мутаций эволюцию следующих признаков: волосистой покров млекопитающих; перья птиц; сегментация у членистоногих и позвоночных; превращения, претерпеваемые в процессе филогенеза жаберными щелями вместе с дугами аорты, мышцами, нервными волокнами и т. п.; далее, зубы, раковины моллюсков, наружные скелеты, сложные глаза, кровообращение, чередование поколений, статостисты, амбулакральная система и педицеллярные иглокожих, стрекательные капсулы, ядовитые железы змей, китовый ус и, наконец, такие химические различия, как гемоглобин или гемоцианин.

путем простой замены рецептора. Поэтому, изменяя поверхностные рецепторы клетки, можно изменить ее компетенцию, в результате чего она будет реагировать на другой индуктор.

Гольдшмидт считал, что возникновение новых видов не связано с микроэволюционными механизмами и что популяционная генетика не в состоянии объяснить структуры новых типов, для появления которых необходимо одновременное изменение нескольких компонентов. Такое макроэволюционное изменение «требует другого эволюционного метода — настоящего накопления микромутаций». Гольдшмидт рассматривал гомеозисные мутации как «макромутации», способные превращать одну структуру в другую и, возможно, создавать новые структуры или новые комбинации структур. Эти мутации должны были затрагивать не структурные, а регуляторные гены. Новый вид, утверждал Гольдшмидт, должен начинаться как «многообещающее чудовище» (довольно неудачное выражение, заимствованное у Мечникова).

В то же самое время Уоддингтон пытался найти механизмы развития, способные создавать такие новые виды. Он также рассматривал гомеозисные мутации у мух как модели возникновения совершенно новых фенотипов и сформулировал концепцию передачи компетенции («генетической ассимиляции») для объяснения некоторых аспектов морфологической эволюции. Работы Гольдшмидта и Уоддингтона привлекли к себе внимание лишь немногих ученых; эти работы не касались популяционно-генетической парадигмы современного синтеза, и предлагавшиеся их авторами научные программы были сомнительными. (Гольдшмидт не верил в моргановское представление о гене как об отдельной единице, а работа Уоддингтона была неверно воспринята как поддержка концепции наследования приобретенных признаков.) Однако в 1970-х годах события в палеонтологии (теория прерывистого равновесия), события в общественной жизни (креационисты уступают микроэволюцию биологам, но оспаривают макроэволюцию) и события в молекулярной биологии (в особенности опубликованная в 1975 г. статья Кинга и Уилсона, в которой было доказано, что ДНК шимпанзе и ДНК человека идентичны более чем на 99%) заставили ученых серьезно отнестись к точке зрения, согласно которой мутации регуляторных генов могут вызывать серьезные морфологические изменения.

Возникает новый морфологический синтез, вобравший в себя все лучшее из модели «микроэволюция дает макроэволюцию» и из модели «макроэволюция как самостоятельное явление». Из последней

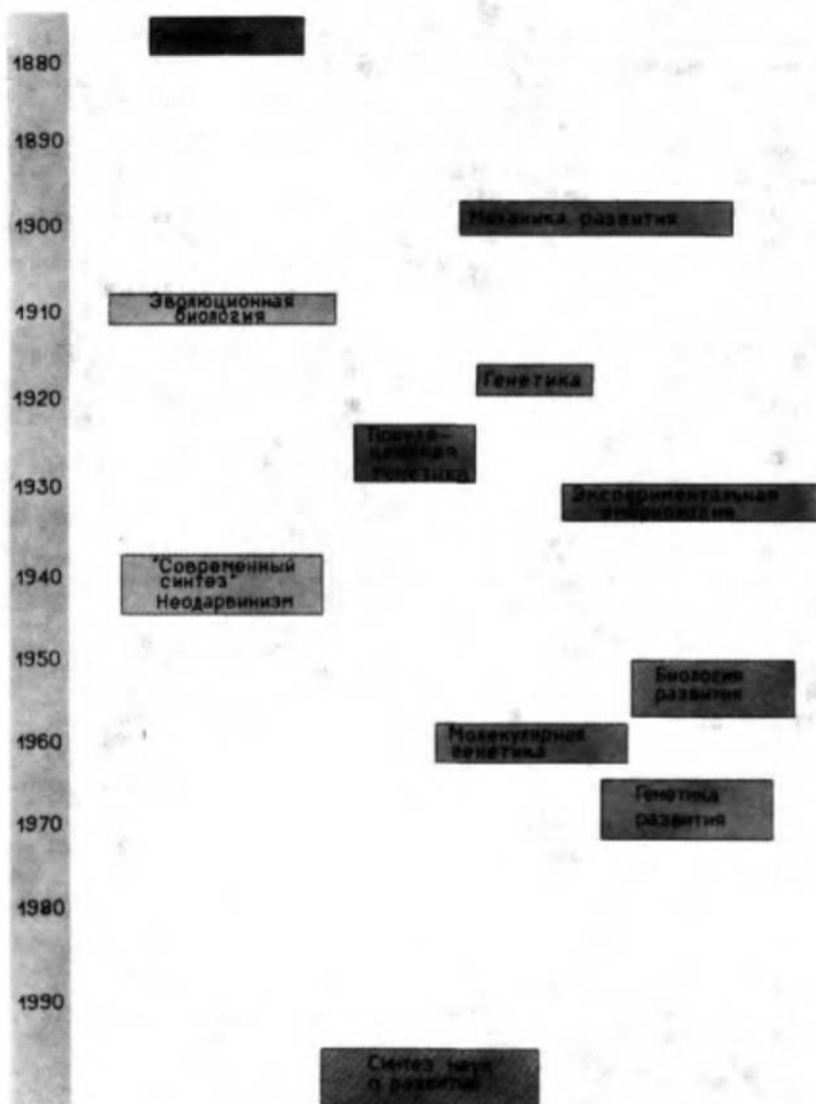


Рис. 23.24. Пути развития биологических дисциплин, связанных с изучением эволюции, начиная от 1880 г. до настоящего времени. Для ясности другие пути (ведущие, например, от генетики к генетике человека или от эволюции к иммунологии) в схему не включены.

модели этот синтез заимствовал представление о том, что мутации регуляторных генов могут создавать «скачки» от одного фенотипа к другому без всяких промежуточных ступеней. Из первой — представление о том, что генные мутации позволяют объяснить такие варианты и что под действием отбора они могут элиминироваться или оставаться в популяциях. Этот новый синтез сохраняет также множественность парадигм. В одних случаях (таких, как создание клеток нервного гребня) происходит качественное изменение; в других (таких, как образование защечных мешков у гофера) — после какого-то порога количество переходит в качество.

В настоящее время мы переживаем особый момент в нашем понимании природы, ибо синтез

генетики развития с эволюционной биологией может привести к переоценке наших представлений о механизмах, лежащих в основе эволюционного изменения и разнообразия животных. Такой синтез — это в сущности возврат к более всеобъемлющей эволюционной теории, которая раздробилась на части в конце прошлого века (рис. 23.24). В конце XIX в. эволюционная биология объединяла в себе несколько разных наук, которые мы теперь называем эволюционной биологией, систематикой, экологией, генетикой и эмбриологией. К началу нашего века из эволюционной биологии выделились «вопросы наследственности», т.е. генетика и развитие. Генетика в конечном счете разделилась на популяционную и молекулярную генетику, а эмбриология превратилась в биологию развития (Gilbert, 1979,

1988). К середине XX в. популяционная генетика слилась с эволюционной биологией, образовав эволюционную генетику «современного синтеза», тогда как молекулярная генетика слилась с биологией развития, чтобы образовать генетику развития. Возникшие в результате две обширные области — генетика развития и эволюционная генетика — находятся на пороге слияния, которое может объединить эти давно разделившиеся ветви биологии и произвести на свет теорию генетики развития, способную объяснить макроэволюцию.

Когда Вильгельм Ру (Wilhelm Roux, 1894) провозгласил создание «механики развития», он не вполне порвал с эволюционной биологией. Напротив, он утверждал: что «необходимо совершенствовать онтогенетическую и филогенетическую механику развития». Он отмечал далее, что механика развития зародышей (онтогенетическая ветвь) должна развиваться быстрее, чем филогенетические исследования, «но вследствие тесных каузальных связей между этими двумя ветвями многие заключения, сделанные на основании изучения онтогенеза, прольют свет на филогенетические процессы». Мы сейчас находимся в той точке, из которой мы можем наблюдать за рождением второй из названных Ру механик развития и создавать единую теорию эволюции.

ЛИТЕРАТУРА

- Adams M. (1991). Soviet perspectives on evolutionary theory. In: L. Warren, M. Meselson (eds.), *New Perspectives in Evolution*, Liss/Wiley, New York.
- Alberch P., Gale E. (1983). Size dependency during the development of the amphibian foot. Colchicine induced digital loss and reduction, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **76**, 177–197.
- Alberch P., Gale E. (1985). A developmental analysis of an evolutionary trend. Digit reduction in amphibians, *Evolution*, **39**, 8–23.
- Alexandrov D. A., Sergievsky S. O. (1984). A variant of sympatric speciation in snails, *Malacol. Rev.*, **17**, 147.
- Ambros V. (1989). A hierarchy of regulatory genes controls a larva-to-adult developmental switch in *C. elegans*, *Cell*, **57**, 49–57.
- Bateson W. (1894) *Materials for the Study of Variation*, Cambridge University Press, Cambridge.
- Berg R. L. (1960). Evolutionary significance of correlation pleiades, *Evolution*, **14**, 171–180.
- Berrill N. J. (1955). *The Origins of the Vertebrates*, Oxford University Press, New York.
- Berrill N. J. (1987). Early chordate evolution. I. Amphioxus, the riddle of the sands, *Int. J. Invert. Repr. Dev.*, **11**, 1–27.
- Brylski P., Hall B. K. (1988). Ontogeny of a macroevolutionary phenotype: The external cheek pouches of geomysoid rodents, *Evolution*, **42**, 391–395.
- Burke A. C. (1989a). Epithelial-mesenchymal interactions in the development of the chelonian Bauplan, *Fortschr. Zool.*, **35**, 206–209.
- Burke A. C. (1989b). Development of the turtle carapace: Implications for the evolution of a novel bauplan, *J. Morphol.*, **199**, 363–378.
- Buss L. W. (1987). *The Evolution of Individuality*, Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Charnov E. L., Bull J. J. (1977). When is sex environmentally determined? *Nature*, **266**, 828–830.
- Chernyak L., Tauber A. I. (1988). The birth of immunology: Metchnikoff, the embryologist, *Cell. Immunol.*, **117**, 218–233.
- Chernyak L., Tauber A. I. (1991). *From Metaphor to Theory: Metchnikoff and the Origin of Immunology*, Oxford University Press, New York.
- Clack J. A. (1989). Discovery of the earliest known tetrapod stapes, *Nature*, **342**, 425–427.
- Clark B., Murray J. (1969). Ecological genetics and speciation in land snails of the genus *Partula*, *Biol. J. Linn. Soc.*, **1**, 31–42.
- Clarke C. A., Sheppard P. M., Thornton I. W. B. (1968). The genetics of the mimetic butterfly *Papilio memnon*, *Philos. Trans. R. Soc. Lond.*, [B], **254**, 37–89.
- Conklin E. G. (1915). *Heredity and Environment in the Development of Men*, Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Conover D. O., Heins S. W. (1987). Adaptive variation in environmental and genetic sex determination in a fish, *Nature*, **326**, 496–498.
- Conway Morris S., Whittington H. B. (1979). The animals of the Burgess Shale, *Sci. Am.*, **240**(1), 122–133.
- Darwin C. (1859). *The Origin of Species*, John Murray, London.
- Dobzhansky T. G. (1937). *Genetic and the Origin of Species*, Columbia University Press, New York.
- Elinson R. P. (1987). Changes in developmental patterns: Embryos of amphibians with large eggs. In: R. A. Raff and E. C. Raff (eds.), *Development as an Evolutionary Process*, Alan R. Liss, New York, pp. 1–21.
- Fraser S., Keynes R., Lumsden A. (1990). Segmentation in the chick embryo hindbrain is defined by cell lineage restrictions, *Nature*, **344**, 431–435.
- Gans C. (1989). Stages in the origin of vertebrates: Analysis by means of scenarios, *Biol. Rev.*, **64**, 221–268.
- Gans C., Northcutt R. G. (1983). Neural crest and the origin of vertebrates: A new head, *Science*, **220**, 268–274.
- Garstang W. (1922). The theory of recapitulation: a critical restatement of the biogenetic law, *J. Linn. Soc. Zool.*, **35**, 81–101.
- Garstang W. (1928). Presidential address to the British Association for the Advancement of Science, Section D, *Published in Larval Form and Other Zoological Verses*, 1985. University of Chicago Press, Chicago, pp. 77–98.
- Gasman D. (1971). *The Scientific Origins of National Socialism: Social Darwinism in Ernst Haeckel and the German Monist League*, MacDonald, London.
- Gemmell J. F. (1912). The development of the starfish *Solaster endeca* (Forbes), *Trans. Zool. Soc. Lond.*, **20**, 1–72.
- Gilbert S. F. (1978). The embryological origins of the gene theory, *J. Hist. Biol.*, **11**, 307–351.
- Gilbert S. F. (1988). Cellular politics: Ernest Everett Just, Richard B. Goldschmidt, and the attempt to reconcile embryology and genetics. In: R. Ranger, K. R. Benson and J. Maienschein (eds.), *The American development of Biology*, University of Pennsylvania Press, Philadelphia, pp. 311–346.
- Gish D. T. (1973). *Evolution?—The Fossils Say No!* Creation-Life Publishers, San Diego.
- Goldschmidt R. B. (1940). *The Material Basis of Evolution*, Yale University Press, New Haven.
- Gould S. J. (1977a). *Ever Since Darwin*, Norton, New York.
- Gould S. J. (1977b). *Ontogeny and Phylogeny*, Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Gould S. J. (1989). *Wonderful Life*, Norton, New York.
- Gould S. J. (1990). An earful of jaw, *Natural History* 1990(3), 12–23.
- Gould S. J., Lewontin R. C. (1979). The spandrels of San Marcos and the Panglossian paradigm: A critique of the adaptationist program, *Proc. R. Soc. London [B]* **205**, 581–598.

- Grant P. (1978). *Biology of Developing Systems*, Holt, Rinehart and Winston, New York.
- Haeckel E. (1900). *The Riddle of the Universe*. Harper and Bros, New York.
- Hampé A. (1959). Contribution à l'étude du développement et à la régulation des déficiences et excédents dans la patte de l'embryon de poulet. *Arch. Micr. Morph. Exp.*, **48**, 347–379.
- Henry J.J., Amemiya S., Wray G.A., Raff R.A. (1989). Early inductive interactions are involved in restricting cell fates of mesomeres in sea urchin embryos. *Dev. Biol.*, **136**, 140–153.
- Holder N. (1983). Developmental constraints and the evolution of vertebrate limb patterns. *J. Theor. Biol.*, **104**, 451–471.
- Holland P.W.H. (1990). Homeobox genes and segmentation: co-option, co-evolution, and convergence. *Sem. Dev. Biol.*, **1**, 135–145.
- Hopson J.A. (1966). The origin of the mammalian middle ear. *Am. Zool.*, **6**, 437–450.
- Jefferies R.P.S. (1986). *The Ancestry of the Vertebrates*, British Museum of Natural History, London.
- Jones M.L., Gardiner S.L. (1989). On the early development of the vestimentiferan tube worm *Ridgeia* sp. and observations on the nervous system and trophosome of *Ridgeia* sp. and *Riftia pachyptila*. *Biol. Bull.*, **177**, 254–276.
- Kauffman S.A. (1993). *Origins of Order*, Oxford University Press, New York.
- Kemp T.S. (1982). *Mammal-Like Reptiles and the Origin of Mammals*, Academic Press, New York.
- King M.-C., Wilson A.C. (1975). Evolution at two levels in humans and chimpanzees. *Science*, **188**, 197–116.
- Kline D., Simoncini L., Mandel G., Maue R.A., Kado R.T., Jaffe L.A. (1988). Fertilization events induced by neurotransmitters after injection of mRNA in *Xenopus* eggs. *Science*, **241**, 464–467.
- Kovalevsky A. (1871). Weitere Studien II. die Entwicklung der einfachen Ascidien. *Arch. Micr. Anat.*, **7**, 101–130.
- LaBarbera M. (1990). Principles of design of fluid transport systems in zoology. *Science*, **249**, 992–1000.
- Langille R.M., Hall B.K. (1989). Developmental processes, developmental sequences and early vertebrate phylogeny. *Biol. Rev.*, **64**, 73–91.
- Langman J. (1981). *Medical Embryology*, William and Wilkins, Baltimore.
- Larson A., Wake D.B., Maxson L.R., Highton R. (1981). A molecular phylogenetic perspective on the origins of morphological novelties in the salamander of the tribe plethodontini (Amphibia, Plethodontidae). *Evolution*, **35**, 405–422.
- Lillie F.R. (1898). *Adaptation in cleavage*, Biological Lectures from the Marine Biological Laboratories, Woods Hole, Massachusetts, Ginn, Boston, pp. 43–67.
- Margulis L., Schwartz K.V. (1988). *The Five Kingdoms*, 2nd Ed., W.H. Freeman, San Francisco.
- Mayr E. (1963). *Animal Speciation and Evolution*, Harvard University Press, Cambridge.
- Mayr E., Provine W. (1980). *The Evolutionary Synthesis: Perspectives on the Unification of Biology*, Harvard University Press, Cambridge.
- Metchnikoff E. (1886). *Embryologische Studien an Medusen*. Ein Beitrag zur Genealogie der Primitive-Organen. Vienna.
- Metchnikoff E. (1891). *Zakon zhizni. Po povodu nekotorykh proizvedenii gr. Tolstogo*, Vest. Evropy, **9**, 228–260. Quoted and translated in Chernyak and Tauber, 1990, From Metaphor to Theory: Metchnikoff and the Origin of Immunology, Oxford University Press, New York.
- Mivart St.G. (1871). *On the Genesis of Species*, Macmillan, London.
- Müller F. (1864). *Für Darwin*, Engelmann, Leipzig.
- Müller G.B. (1989). Ancestral patterns in bird limb development: A new look at Hampé's experiment. *J. Evol. Biol.*, **1**, 31–47.
- Osipov D. (1981). *The Development of Darwin's Theory*, Cambridge University Press, Cambridge.
- Oster G.F., Wilson E.O. (1978). *Caste and Ecology in the Social Insects*, Princeton University Press, Princeton, N. J.
- Oster G.F., Shubin N., Murray J.D., Alberch P. (1988). Evolution and morphogenetic rules: The shape of the vertebrate limb in ontogeny and phylogeny. *Evolution*, **42**, 862–884.
- Owen R. (1848). *On the Archetype and Homologies of the Vertebrate Skeleton*, London.
- Rabinow L., Dickinson W.J. (1986). Complex cis-acting regulators and locus structure of *Drosophila* tissue-specific ADH variants. *Genetics*, **112**, 523–537.
- Raff R.A., Kaufman T.C. (1983). *Embryos, Genes, and Evolution*, Macmillan, New York.
- Raff R.A., Wray G.A. (1989). Heterochrony: Developmental mechanisms and evolutionary results. *J. Evol. Biol.*, **2**, 409–434.
- Raff R.A., Wray G.A., Henry J.J. (1991). Implications of radical evolutionary changes in early development for concepts of developmental constraint. In L. Warren, M. Meselson (eds.), *New Perspectives in Evolution*, Liss/Wiley, New York.
- Reichert C.B. (1837). *Entwicklungsgeschichte der Gehörknöchelchen der sogenannte Meckelsche Fortsätze des Hammers*. Müller's Arch. Anat. Phys. vissenschaft. Med., **177**–188.
- Renfree M.B. (1982). Implantation and placentation. In: C.R. Austin and R.V. Short (eds). *Reproduction in Mammals 2: Embryonic and Fetal Development*, Cambridge University Press, Cambridge.
- Romer A.S. (1970). The Chanares (Argentina) Triassic reptile fauna VI, A chiniquodontid cynodont with and incipient squamosal-dentary jaw articulation. *Breviora*, **344**, 1–18.
- Roux W. (1894). *The problems, methods, and scope of developmental mechanics*, Biological lectures of the Marine Biology Laboratory, Woods Hole, Ginn, Boston, pp. 149–190.
- Schmalhausen I.I. (1949). *Factors of Evolution: The Theory of Stabilizing Selection*, Blakiston, Philadelphia.
- Slack J.M.W. (1983). *From Egg to Embryo: determinative Events in Early Development*, Cambridge University Press.
- Slijper E.J. (1962). *Whales* (Translated by A.J. Pomerans). Basic Books, New York.
- Spemann H. (1901). Über Correlationen in der entwicklung des Auges. *Verh. Anat. Ges. [Vers. Bonn]*, **15**, 61–67.
- Stein G.J. (1988). Biological science and the roots of Nazism. *Am. Sci.*, **76**, 50–58.
- Stockard C.R. (1941). The genetic and endocrine basis for differences in form and behavior as elucidated by studies of contrasted pure-line dog breeds and their hybrids. *Am. Anat. Memoirs* **19**.
- Thomson K.S. (1988). *Morphogenesis and Evolution*, Oxford University Press, New York.
- Torrey T.W., Feduccia A. (1979). *Morphogenesis of the Vertebrates*, Wiley, New York.
- Van Valen L.M. (1976). Energy and evolution. *Evol. Theor.*, **1**, 179–229.
- von Baer K.E. (1828). *Entwicklungsgeschichte der Thiere: Beobachtung und Reflexion*, Bornträger, Königsberg.
- von Baer K.E. (1886). *Autobiography of Dr. Karl Ernst von Baer*. (Translated by H. Schneider.) Science History Publications, Canton, MA, pp. 261–262.
- Waddington C.H. (1938). The morphogenetic function of a vestigial organ in the chick. *J. Exp. Biol.*, **15**, 371–376.
- Waddington C.H. (1940). *Organisers and Genes*, Cambridge University Press, Cambridge.
- Waddington C.H. (1956). *Principles of Embryology*, Allen and Unwin, London.
- Waddington C.H., Needham J., Brachet J. (1936). Studies on the nature of the amphibian organization centre. III. The activation of the evocator. *Proc. R. Soc. London [B]*, **120**, 173–198.
- Wake D.B., Larson A. (1987). *A multidimensional analysis of an*

- evolving lineage, *Science*, **238**, 42–48.
- Wheeler D.* (1986). Developmental and physiological determinants of caste in social hymenoptera: Evolutionary implications, *Am. Nat.*, **128**, 13–34.
- Whittington H. B.* (1985). *The Burgess Shale*, Yale University Press, New Haven.
- Wilson E. B.* (1898). Cell lineage and ancestral reminiscence, *Biological Lectures from the Marine Biological Laboratories*, Woods Hole, Massachusetts, Ginn, Boston, pp. 21–42.
- Wilson E. O.* (1971). *The Insect Societies*, Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Winsor M. P.* (1969). Barnacle larvae in the nineteenth century: A case study in taxonomic theory, *J. Hist. Med. Allied Sci.*, **24**, 294–309.
- Wolpert L.* (1983). Constancy and change in the development and evolution of pattern. In: B. C. Goodwin, N. Holder and C. C. Wylie (eds.), *Development and Evolution*, Cambridge University Press, Cambridge.
- Zangerl R., Williams M. E.* (1975). New evidence on the nature of the jaw suspension in Paleozoic anacanthus sharks, *Paleontology*, **18**, 333–341.

Эпилог

Очерк некоторых нерешенных проблем

Не тебе суждено закончить работу.

Но тебе не удастся уклониться от ее выполнения.

РАББИ ТАРФОН (ПРИМЕРНО 70 г.)

Наши знания в области биологии необычайно расширились с того времени, когда проводили свои эксперименты и предлагали новые гипотезы. Ру, Шабри и Вейсман. Отпраздновав, однако, столетие их работ, мы в еще большей степени, чем они, осознали огромную сложность процессов развития. Когда-то Спенсер сравнил науку с находящимся в океане непознанного воздушным шаром, который продолжают надувать: чем больше становится объем шара, тем большая площадь его поверхности соприкасается с областью неизвестного. Именно на поверхности шара и происходит становление разных наук.

Если судить о состоянии важнейших научных проблем по учебникам, то создается впечатление, что большая часть этих проблем уже решена. Между тем интригующая сторона современной биологии развития как раз и заключается в том, что наиболее интересные проблемы еще ждут своего решения. Более того, не существует какого-то одного конкретного пути их решения. Замечательная особенность биологии развития заключается в том, что при изучении ее проблем можно не ограничиваться каким-то одним набором видов животных, условий окружающей среды или уровней организации. Для их изучения можно использовать методы морфологии, молекулярной, клеточной и эволюционной биологии; объектом исследования может быть любой организм, обитающий на Земле. Ниже представлен лишь небольшой перечень важнейших вопросов, сгруппированных в соответствии с тремя частями книги, и заслуживающих того, чтобы уделить их рассмотрению свое время и силы.

Часть I

Не многие аспекты биологии развития подверглись столь кардинальным изменениям, как изучение оплодотворения; здесь возникли совершенно новые направления исследований. Содержит ли плазматическая мембрана яйца рецептор для спермий? Каковы молекулярные механизмы слияния спермий

и яйцеклетки? Почему разные ионные каналы открываются в нужное время? Как кальций высвобождается из мембранных пузырьков и как он индуцирует слияние мембран? Какова механика миграции пронуклеусов? Как осуществляется капацитация спермий млекопитающих? Чем объясняются различия между мужским и женским пронуклеусами у млекопитающих и как возникают эти различия?

Объяснить полностью механизмы дробления также пока не удастся; мы до сих пор не понимаем процессов, ответственных за положение и угол наклона митотического веретена. Неизвестен и временной механизм клеточного деления, а изучение координации между синтезом ДНК, кариокинезом, синтезом мембраны, цитокинезом и цитоскелетом еще только началось. Переход на стадию средней бластулы (midblastula transition), по-видимому, контролируется удлинением клеточного цикла, но мы не знаем, какой фактор (или факторы) регулирует изменчивость продолжительности интерфазы между митозами.

Координация гастрюляционных движений на молекулярном уровне пока непонятна ни у одного организма, неизвестна и связь между клеточными делениями, гастрюляцией и экспрессией генов. Механизмы направленного движения клеток во многом остаются тайной. Не разгаданы и механизмы, посредством которых эктодермальные клетки получают инструкции, побуждающие превратиться их либо в эпителиальные, либо в нервные. Проблемы развития мозга или нервной системы составляют отдельную дисциплину — нейробиологию развития, в сферу компетенции которой входят следующие вопросы: каким образом нейроны мигрируют в специфические области коры головного мозга; почему нейроны с одними клетками образуют синапсы, а с другими — нет.

Мы обсудили некоторые механизмы формирования сердца, но многие вопросы в этой области до сих пор еще остаются без ответа. Если сердце формируется на средней линии зародыша, то как оно перемещается на одну сторону тела? Как крупные кровеносные сосуды, отходящие от сердца, соеди-

няются с капиллярами, образующимися в органах? Каковы механизмы, определяющие дифференцировку мезодермы? Не изучены и эволюционные аспекты многих процессов развития. Например, как возникает хорда и каковы ее изначальные функции? Недавно Беррил (Berrill, 1987) завершил 50-летнюю работу над этой проблемой, предложив гипотезы, касающиеся биомеханики и экологии низших хордовых.

Другой эволюционный аспект связан с происхождением плаценты. Один из подходов к решению этой проблемы (Renfree, 1982) заключается в изучении везародышевых оболочек сумчатых и однопроходных, таких, как утконос. (Это яйцекладущее млекопитающее с носом, похожим на утиный, считалось «грубой австралийской мистификацией» до 1884 г., когда Колдуэлл (Caldwell) телеграфировал в Британское общество: «Однопроходное яйцекладущее, яйцо меробластическое».) Способы развития плаценты и ее функции только начинают проявляться.

Часть II

Как и в большинстве учебников, содержащих разделы по молекулярной биологии, в соответствующих главах этой книги представлены прежде всего успехи, достигнутые в этой области. И это нетрудно сделать, потому что и достижения молекулярной биологии, и энтузиазм молекулярных биологов достойны восхищения. Однако было бы ошибкой полагать, что молекулярный анализ процессов развития в основном завершен. Молекулярным биологам еще предстоит решить сложные проблемы дифференцировки и морфогенеза. Один из моих друзей однажды начал свою лекцию так: «Уотсон и Крик выполнили наиболее легкую часть задачи — разрешили проблему передачи генов. Более сложная проблема — экспрессия генов — остается нерешенной».

Молекулярный анализ развития сфокусирован главным образом на терминальных этапах дифференцировки. Так, нам уже известны *цис*- и *транс*-регуляторные элементы для небольшого числа продуктов дифференцированных клеток. Но эти белки (например, иммуноглобулины, глобины, вителлогенины) образуются на последних стадиях долгого пути развития и являются в той же мере следствием дифференцировки, в какой и ее причиной. Мы знаем, что гены легкой цепи иммуноглобулинов в В-лимфоцитах активируются специфическими *транс*-регуляторными белками, связывающимися с промотором и энхансером. Но мы не имеем ни малейшего представления о том, чем активируются эти регуляторные гены. Яйцо и В-лимфоцит отделяют друг от друга многие поколения клеток, перед которыми по ходу развития неоднократно вставала задача решающего выбора (внутренняя клеточная масса, а не

трофобласт; гемангиобласт кровяного островка, а не фибробласт; предшественник лимфоцита, а не предшественник клеток крови; В-клетка, а не Т-клетка), и молекулярная основа этих событий почти полностью неизвестна.

Кроме того, нам до сих пор не понятны молекулярные механизмы детерминации и индукции. И если мы знаем, что у оболочников желтый серп играет важную роль в инструктировании бластомеров к дифференцировке в мышечные клетки, то ни химическая природа детерминанта, ни то, как он взаимодействует с геном, нам неизвестны. Возможность клонировать гены и выявлять их продукты открыла пути для поиска цитоплазматических детерминантов. Наиболее удобными организмами для генетического анализа процессов детерминации оказались дрозофила и крошечная нематода *Caenorhabditis elegans*. В обоих случаях, чтобы добиться каких-либо успехов в поисках генов, ответственных за детерминацию судьбы клеток, молекулярные биологи объединяются с биологами развития (а иногда ими становятся). Несомненно, упомянутые организмы в ближайшие годы будут использоваться для конструирования путей развития, на которых будет прослежена экспрессия генов от зиготы до формирования сложных органов. Обнаружив, что можно изменить судьбу клетки с помощью дифференциального процессинга РНК, исследователи создали новую область науки.

Однако в развитии этих двух видов индукционных взаимодействий играют лишь весьма незначительную роль. А между тем в 1987 г. были опубликованы две работы, авторы которых — Ф. Х. Уилт и Дж. Б. Гердон — призвали к изучению сложных, но эмбриологически так много значащих проблем, связанных с индукционными взаимодействиями. В обеих статьях утверждалось, что молекулярная биология достигла возраста, достаточно зрелого для того, чтобы приступить к решению действительно сложных проблем эмбриологии. Нет сомнения в том, что многие нерешенные молекулярные проблемы останутся для следующего поколения биологов развития.

Молекулярная биология потенциально способна объяснить многие явления, происходящие в процессе развития, однако существуют такие аспекты развития, которые непосредственно геномом не контролируются. Не всегда можно предсказать фенотип организма, исходя из его генотипа или генотипа его родителей. Как уже обсуждалось ранее, дифференцировка плазматических клеток направляется антигенами, присутствующими в их микроокружении; детерминация пола у рептилий контролируется температурой, а нервные связи могут быть усилены или отменены в зависимости от использования или неиспользования нейронов. У книдарий

геном может дать либо гидрант, либо медузу. В этих ситуациях гены обеспечивают возможный набор фенотипов (называемый **нормой реакции**), а условия среды вызывают реализацию одной из воз-

можностей. Механизмы взаимодействия условий среды с наследственным потенциалом особи – еще одна область, требующая новых исследований.

Дополнительные сведения и гипотезы

Молекулярная биология и эмбриология

Одна из наиболее сильных и замечательных сторон биологии развития – это свобода выбора. Полноправным биологом развития может считать себя и тот, кто занимается переносом мышиных глобиновых генов в культивируемые клетки, и тот, кто изучает оседание личинок моллюсков в эстуарии. На первом заседании Симпозиума по росту (позже ставшим Обществом биологии развития) Н. Дж. Беррил перечислил 15 дисциплин, каждая из которых вносит свой вклад в обсуждаемые на Симпозиуме проблемы развития. В последние годы этот список пополнился новыми дисциплинами, и среди них – иммунология, онкология и молекулярная биология.

Ясно, что биология развития представляет собой продукт синтеза целого ряда дисциплин, однако традиционно она основывается на данных эмбриологии. Именно эмбриология определила основные проблемы биологии развития и в значительной степени методологию исследователей. В последние годы, однако, молекулярная биология несколько потеснила ведущее положение эмбриологии, послужив источником противоречий внутри биологии развития. Многие биологи развития опасаются подмены эмбриологии молекулярной биологией не из-за результатов применения молекулярно-биологических методов, а по причине радикальных отличий методологии молекулярной биологии от методологии эмбриологии. В самом деле, противостояние эмбриологии и молекулярной биологии сравнимо с противостоянием натурализма и абстрактного формализма. Различие между ними легко увидеть, представив себе скульптуру Микеланджело рядом со скульптурой Бранкузи.

Абстрактный формализм (подобный тому, который мы наблюдаем в современном искусстве) старается проникнуть во внутреннюю сущность явления, пытаясь выявить скрытую реальность, «более реальную, чем сама реальность». Молекулярная биология рассматривает организм как результат проявления его генов, сводя всю эмбриологию к изучению дифференциальной экспрессии генов. Точно так же, как художник-абстракционист может изобразить стол в виде линии, не заботясь о том, какой он – из дуба, пластика или металла, красный или

белый, – молекулярные биологи исторически игнорируют видовые различия, пытаясь найти скрытую общность живых организмов. Эстетический пафос молекулярной биологии – простота и единообразие. Все организмы рассматриваются как кибернетические системы, генетический код которых содержит программу определяющую поток информации к тем или иным клеткам. Все клетки пользуются одинаковым кодом и преобразуют закодированную информацию с помощью одинаковых расшифровывающих механизмов (Oyama, 1985; Kaye, 1986).

Этот редукционистский формализм находится в явном противоречии с натуралистическим органицизмом эмбриологической традиции. Эмбриология вызывает к чувствам. Во главу угла она по традиции ставит сложность организмов и их индивидуальные особенности. И экспериментальной, и описательной эмбриологии свойствен сенсуалистический подход к явлениям развития; эмбриологи неустанно подчеркивают важность организма как целого и среды его обитания. И если усилия молекулярных биологов сосредоточены на анализе генов, манипулировать которыми можно и вне организма, то эмбриологи подчеркивают, что «организм в его целостности так же необходим для понимания отдельных его элементов, как и элементы – для понимания целостности организма» (Haraway, 1976). В соответствии с эстетикой эмбриологии организм воспринимается в его развивающейся целостности, как источник удивления и вдохновения на дальнейшие исследования. Так, Гольцфретер (Holtfreter, 1968) говорил, что по мере его наблюдений над развивающимся зародышем амфибий он «все больше приближается к пониманию внутренней гармонии, интеграции, исполненности смысла и взаимозависимости структур и функций». Для него, как и для его коллеги Виктора Гамбургера, «истинным учителем всегда был и остается зародыш».

Эти различия в перспективе ярко проявились на одном из последних семинаров, когда докладчик заметил, что гомеозисные мутации, наблюдаемые у дрозофилы, не встречаются у млекопитающих. Эмбриолог ответил, что конечности дрозофилы формируются в результате выворачивания имгинальных дисков, а конечности млекопитающих – в

результате взаимодействий между мезодермой и апикальным эктодермальным гребнем, следовательно нет оснований для поисков у млекопитающих мутаций, подобных мутации *Bithorax*. Молекулярный биолог возразил, что этот аргумент рассыпается в прах перед результатами 30-летних исследований, показавших, что фундаментальные генетические механизмы у всех организмов одинаковы.

Между молекулярной биологией и эмбриологией существует целый ряд взаимодействий. Биологию развития чрезвычайно обогатили открытия в области молекулярной биологии, а будущее сулит ей еще большие выгоды. В свою очередь молекулярная биология во многом изменилась, встретившись со сложностью зародыша. Теперь уже невозможно согласиться с господствовавшей ранее в молекулярной биологии точкой зрения, в соответствии с которой считалось, что молекулярная биология уже решила все основные проблемы биологии и молекулярный

анализ эмбриогенеза — это всего-навсего правильное приложение существующих знаний. Биология развития многое приобрела в результате взаимодействия этих двух дисциплин. Биология развития больше не является ни частью молекулярной биологии, ни продолжением эмбриологии. Поэтому при распределении фондов и ресурсов следует обеспечивать условия, при которых ни одна из этих дисциплин не развивалась бы за счет другой.

Различия между традициями эмбриологии и молекулярной биологии можно проследить исторически вплоть до противоречий между Аристотелем и Платоном. Еще Риттер (Ritter, 1919) утверждал, что некоторые из фундаментальных противоречий биологии колеблются между абстрактным формализмом и органицизмом. Пока мы не сможем их разрешить, биология развития, которая помимо всего прочего изучает любую часть любого организма как функцию времени, должна включать оба направления.

Часть III

Одна из важнейших задач биологии развития — перевод рабочих дефиниций в действительные вещества и процессы. Такими рабочими дефинициями, ждущими своего воплощения в реальные физические сущности, изобилует область морфогенеза. Например, что такое «поле»? Можно экспериментальным путем убедиться в его существовании, но как у организма образуется поле, и каким образом решается вопрос о том, какие клетки будут входить в его состав, а какие — нет? Изучение щелевых контактов, молекул клеточной адгезии и гомеостатических генов может объяснить, как возможность формирования глаза, конечности или челюсти передается от генома к полю и, наконец, реализуется организмом.

Точно так же существуют многочисленные явления, объяснить которые можно было бы наличием градиента некоего вещества. В большинстве случаев такие вещества не обнаружены. Выделению соответствующих молекул могло бы способствовать применение иммунологических методов. Кроме того, механизмы дифференциального ответа клеток на разные концентрации морфогена все еще неизвестны. Каким образом осуществляется инструктирование клеток к синтезу различных продуктов в зависимости от этой концентрации?

Одна из основных составляющих морфогенеза — направленность и число клеточных делений. Что заставляет клетку сделать определенное число делений и не больше? Что инструктирует клетку к выбору направления клеточных делений? В предыдущих главах обсуждалось несколько моделей клеточной миграции, клеточной адгезии, сегментации и

метаморфоза. Большая часть этих моделей не была подтверждена на молекулярном или клеточном уровнях. Мы до сих пор не можем заполнить огромный пробел в наших знаниях, касающийся связи между экспрессией генов и формированием органов.

Одна из наиболее увлекательных областей исследования касается путей, на которых эволюционные изменения определяются закономерностями онтогенеза. Если знания генетических законов достаточно для объяснения микроэволюционных изменений (на уровне вида и ниже), то анализ макроэволюционных процессов (надвидовой уровень) требует знаний законов развития. Эти законы (если бы они были известны) могли бы показать нам, к каким изменениям могут привести тканевые взаимодействия того или иного типа. Эйнштейн заметил когда-то, что его работы были направлены на то, чтобы определить, был ли у Бога выбор при сотворении Вселенной. Современные эволюционные биологи задаются аналогичным вопросом: были ли животные, сформированные в течение прошедших миллиардов лет, единственно возможными животными в соответствии с законами морфогенеза? Специалисты в области эволюционного учения ждут от биологии развития свода правил, которые позволили бы предсказать возможные эволюционные трансформации данных структур и отношений (Wake, Larson, 1987). Эти законы развития предстоит еще открыть. Генетик и эмбриолог Уоддингтон (Waddington, 1962), обсуждая проблемы генетики и морфогенеза, писал:

«Генетика сделала прорыв... Но следующий прорыв, который нужен нам для понимания фунда-

ментальных биологических процессов,—это прорыв в области эмбриологии. Будем надеяться, что он произойдет в скором времени».

Быть биологом развития—это значит всегда продолжать учиться. Необходимо сохранять это состояние академической неопытности в научной отрасли, способной дать столь обширные фундаментальные знания.

ЛИТЕРАТУРА

- Berrill N. J. (1939). Forward. *Growth Suppl.* 1, i–ii.
- Berrill N. J. (1987). Early chordate evolution. I. Amphioxus, the riddle of the sands. II. Amphioxus and ascidians: To settle or not to settle. *Inter. J. Invert. Rep. Dev.* 11, 1–27.
- Gurdon J. B. (1987). Embryonic induction—Molecular prospects. *Development*, 99, 285–306.
- Haraway D. J. (1976). Crystals, Fabrics and Fields: Metaphors of Organicism in Twentieth-Century Developmental Biology. Yale University Press, New Haven.
- Holtfreter J. (1968). Address in honor of Victor Hamburger. In M. Locke (ed.), *The Emergence of Order in Developing Systems*, Academic, New York, pp. ix–xx.
- Kaye H. L. (1986). *The Social Meaning of Modern Biology*. Yale University Press, New Haven.
- Oyama S. (1985). *The Ontogeny of Information*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Renfree M. B. (1982). Implantation and placentation. In C. R. Austin and R. V. Short, *Reproduction in Mammals 2: Embryonic and Fetal Development*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 26–99.
- Ritter W. E. (1919). *The Unity of the Organism*. Gorham Press, Boston.
- Waddington C. H. (1962). New Patterns in Genetics and Development. Columbia University Press, New York, p. 241.
- Wake D. B., Larson A. (1987). Multidimensional analysis of an evolving lineage. *Science*, 238, 42–48.
- Wilt F. H. (1987). Determination and morphogenesis in the sea urchin embryo. *Development*, 100, 559–575.

Литература к эпиграфам

- Bender W., Peifer M. (1987). Oncogenes take wings, *Cell*, **50**, 519–520.
- Borges J. L. (1962). "The Library of Babel" in *Ficciones*, Grove Press, New York, pp. 87–88.
- Boveri T. (1904). Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkerns, Jena (G. Fischer), p. 123.
- Claude A. (1974). The coming of age of the cell. Nobel lecture, reprinted in *Science*, **189** (1975), 433–435.
- Coleridge S. T. (1885). *Miscellanea*, Bohn, London, p. 301.
- Conrad J. (1920). *The Rescue: A Romance of the Shallows*, Doubleday, Page, and Co., Garden City, NJ (1924), p. 447.
- Darwin E. (1791). Quoted in Ghiselin M. T. (1974). *The Economy of Nature and the Evolution of Sex*, University of California Press, Berkeley, p. 49.
- Doyle A. C. (1891). "A Case of Identity" in *The Adventures of Sherlock Holmes*, Reprinted in *The Complete Sherlock Holmes Treasury* (1976), Crown, New York, p. 31.
- Einstein A. (1953). Aphorisms for Leo Baeck, Reprinted in *Ideas and Opinions* (1954), Crown, New York, p. 28.
- Eliot T. S. (1936). "The Hollow Men", Part V, in *Collected Poems 1909–1962*, Harcourt, Brace and World, New York, pp. 81–82, Copyright by T. S. Eliot.
- Eliot T. S. (1942). "Little Gidding", in *Four Quartets*, Harcourt, Brace and Company, New York (1943), p. 39, Copyright by T. S. Eliot.
- Garstang W. (1922). The Theory of Recapitulation: A critical restatement of the biogenetic law. *J. Linn. Soc. Zool.*, **35**, 81–101.
- Hardin G. (1968). *Exploring New Ethics for Survival: The Voyage of the Spaceship Beagle*, Viking Press, New York, p. 45.
- Huxley T. (1895). Quoted in Mitchell P. L. (1900), *Thomas Henry Huxley: A Sketch of His Life and Work*, Putnam, New York, p. 279.
- Jacob F., Monod J. (1963). Genetic repression, allosteric inhibition, and cellular differentiation. In: M. Locke (ed.), *Cutodifferentiation and Macromolecular Synthesis*, Academic, New York, p. 31.
- Jonas H. (1966). *The Phenomenon of Life*, Dell, New York, p. 7.
- Just E. E. (1939). *The Biology of the Cell Surface*, Blakiston, Philadelphia, p. 288.
- Kant I. (1790). *Critique of Judgement*, Translated by J. H. Bernard Hafner, New York, pp. 267–268.
- Kingsley C. (1863). *The Water-Babies: A Fairy Tale for a Land Baby*, Chapman and Hall, London, p. 241.
- Lessing G. E. (1779). Eine Duplik. In: F. Muncker (ed.) *Sämtliche Schriften* 13, Goschen, Leipzig (1897), p. 23.
- Monod J., Jacob F. (1961). Teleonomic mechanism in cellular metabolism, growth, and differentiation, *Cold Spring Harbor Symp. Quant Biol.*, **26**, 389–401.
- Muller H. J. (1922). Variation due to change in the individual gene, *Am. Nat.*, **56**, 32–50.
- Needham J. (1967). *Order and Life*, M. I. T. Press, Cambridge, MA, p. xv.
- Rabbi Tarfon (ca. 54), *Pirke Abot* 2, 16.
- Rastand J. (1960). *Carnets d'un biologiste*, Librairie Stock, Paris.
- Rexroth K. (1952). "Golden Section" In: *Natural Numbers*, New Directions, New York.
- Roux W. (1894). The problems, methods, and scope of developmental mechanics, *Biol. Lect. Woods Hole*, **3**, 149–190.
- Rushdie S. (1989). *The Satanic Verses*, Viking, New York, p. 8.
- Russel E. S. (1916). *Form and Function: A Contribution to the History of Animal Morphology*, John Murray, London, p. 324.
- Shelley M. W. (1831). *Frankenstein, or The Modern Prometheus*, Oxford University Press, (1969), p. 36.
- Spemann H. (1943). *Forschung und Leben*, Quoted in Horder T. J., Witkowski J. A. and Wyley C. C. (1986), *A History of Embryology*, Cambridge University Press, Cambridge, p. 219.
- Tennyson A. (1886). *Idylls of the King*, Macmillan, London (1958), p. 292.
- Thomas L. (1979). "On Embryology". In: *The Medusa and the Snail*, Viking Press, New York, p. 157.
- Virchow R. (1858). *Die cellularpathologie in ihre Begründung auf physiologische und pathologische Gewebelehre*, Berlin, p. 493.
- Virgil (37 B.C.). *Georgics* II, 490.
- Waddington C. H. (1956). *Principles of Embryology*, Macmillan, New York, p. 5.
- Weiss P. (1960). Ross Granville Harrison, 1870–1959, Memorial minute, *Rockefeller Inst. Quarterly*, p. 6.
- Whitehead A. N. (1919). *The Concept of Nature*, University of Michigan Press, Ann Arbor (1957), p. 163.
- Whitehead A. N. (1934). *Nature and Life*, Cambridge University Press, Cambridge, p. 41.
- Whitman C. O. (1894). *Evolution and epigenesis*, *Biol. Lect. Woods Hole*, **3**, 205–224.
- Whitman W. (1855). "Song of Myself". In: S. Bradley (ed.), *Leaves of Grass and Selected Prose*, Holt, Rinehart & Winston, New York (1949), p. 25.
- Whitman W. (1867). "Inscriptions". In: S. Bradley (ed.), *Leaves of Grass and Selected Prose*, Holt, Rinehart & Winston, New York, (1949), p. 1.
- Williams C. M. (1958). Quoted in J. A. Miller (1983), *A brain for all seasons*, *Science News*, **123**, 268–269.
- Wilson E. B. (1925). *The Cell in Development and Heredity*, 3 ed Ed. Macmillan, New York, p. 1112.
- Wolpert L. (1983). Quoted in J. M. W. Slack (1983), *From Egg to Embryo: Determinative Events in Early Development*, Cambridge University Press, Cambridge, p. 1.

Указатель латинских названий

Номера страниц, набранные жирным шрифтом, относятся к рисункам

- Acetabularia crenulata* I: 16, 17
 – *mediterranea* I: 16, 17, 18
Acoelomata I: 31
Adalaria proxima III: 182
Aequoria foskalea III: 297
Agnata III: 304
Ambystoma III: 99, 105
 – *gracilis* III: 172
 – *jeffersonianum* I: 63
 – *maculatum* III: 98, 99
 – *mexicanum* III: 95, 170–171, 172, 306
 – *platineum* I: 63
 – *tigrinum* III: 171, 172
Amphioxus II: 253
Aplysia californica III: 182
 – *juliana* III: 182
 – *parvulata* III: 182
Apterigota III: 303
Arbacia I 43, 58; II: 207
 – *punctulata* I: 42, 45, 65, 208; III: 9, 181
Archaeopterix III: 59
Arthrobacter luteus II: 83
Arthropleura I: 76
Ascaris, I: 41 (См. также *Parascaris*)
Atrophaneura aristolochiae III: 314
 – *coon* III: 314

Bacillus amyloliquifaciens II: 81, 82
Bankia gouldi III: 182
Bolitoglossa occidentalis III: 171
 – *rostrata* III: 171
 – *subpalmata* III: 171
Boltonia II: 15
Bombyx mori II: 127, 191
Bonellia III: 316
 – *viridis* III: 255
Branchiostoma I: 41
Brachydanio rerio I: 98
Buccinum undatum II: 18

Caenorhabditis III: 76, 110, 236, 269
 – *elegans* II: 20–23, 130, 132, 133; III: 78–80, 251–252, 267, 268
 – *ramanei* III: 252
Calcichordata III: 304
Cataglyphis bombylana III: 200
Cecropia III: 12, 179, 181
Centipeda III: 304
Cephalohordata III: 304
Cerebratulus I: 41
Chaetopterus I: 41
Chelydra sepeptina III: 309
Chironomus II: 65, 100, 201
 – *pallidivittatus* II: 102
 – *tentans* II: 67, 101, 103, 184
Chlamydomonas I: 21, 22, 23, 24, 25
Chondrococcus hornemanni III: 182
Chordata III: 304
Cidaris II: 206
Ciona II: 13
Clava squamata III: 297
Clypeaster japonicus I: 59
Cnemidophorus uniparens III: 274
Cnidaria I: 31
Cobeleodus aculeatus III: 311
Conodonti III: 304
Coregonus III: 274
Crassostrea virginica III: 182
Crepidula fornicata III: 255

Dendraster excentricus III: 182
Dentalium I: 41; II: 17
Dictyostelium II: 202, III: 25
 – *discoideum* I: 28, 29
Dicyema I: 41
Dinophilus I: 41
Diptera III: 302
Discoglossus pictus I: 69
Doridella obscura III: 182
Drosophila II: 65, 92, 121, 122, 132, 202, 213; III: 76, 78, 80, 110, 176, 236, 246–248, 281, 282, 283
 – *formella* II: 154; III: 302
 – *hawaiiensis* II: 154; III: 302
 – *hydei* III: 271
 – *melanogaster* II: 66, 68, 90, 101, 104, 120, 216; III: 247, 271, 274, 284
Dysdercus III: 183

Echinus II: 206
 – *microtuberculatus* II: 43
Echinodermata III: 304
Electracrustulenta III: 182
 – *pilosa* III: 182
Eleutherodactylus coqui III: 172, 173
Elysia chlorotica III: 182
Escherichia coli I: 15, II: 14, 83, 84, 90, 91, 94, 141, 142, 148, 210, 238
Eudorina I: 24
 – *elegans* I: 25
Eurycea neotenes III: 172
Euscelis III: 133

Gonium I: 24
Gnatostomata III: 304
Grantia I: 41

Haemophilus aegyptius II: 83
 – *haemolyticus* II: 83
 – *influenzae* II: 83
Haliotis I: 53
Hallucigenia III: 298
Haminoea solitaria III: 182
Heliocidaris erithrogramma III: 173, 174
 – *tuberculata* III: 173, 174
Helisoma III: 115, 116
Hemichordata III: 304
Hemidactylum scutatum III: 306
Herpes simplex II: 87, 88, 150
Histiobdella I: 41
Homo sapiens I: 153; III: 310
Hyalophora cecropia III: 283
Hydra attenuata III: 91
 – *magnipapillata* III: 93
 – *pirardi* III: 91
Hyla III: 99

Ilyanassa I: 84; II: 19, 20
 – *obsoleta* II: 17

Lampsilis ventricola I: 86p
Laurencia pacifico III: 182
Leptasterias hexactis III: 59, 309
Limnaea peregra I: 84
Liopelma I: 76
Lithophilum III: 182
Lithothamnion III: 182
Lynghya majuscula III: 182
Lytechinus I: 54, 115, II: 206, 208
 – *pictus* I: 77, 117; III: 174, 181
 – *variegatus* I: 45, 113, 114, 116

Manduca III: 179
Marmota flaviventris III: 202
Megalocerus giganteus III: 200
Menidia menidia III: 318
Mercenaria mercenaria III: 182
Metazoa III: 310
Micrococcus II: 159
Moraba virgo III: 274
Morpho peleides III: 90
Musca domestica III: 282
Mus domesticus III: 239, 240, 241
 – *musculus* II: 216; III: 223, 239–240
Myrmica rubra III: 317
Mytilus edulis III: 182

Naegleria I: 19
 – *gruberi* I: 18
Nassarius obsoletus III: 182

- Necturus* III: 171, 172
Neottiella III: **265**
Nereis I: **41**

Oltmannsiella I: 24
Oncopeltus fasciatus II: 165
Opabina III: 298
Ophilitaspongia pennata III: 182
Orthopyxis caliculata I: 42
Ostrea edulis III: 182
Otomesostoma I: **41**

Pandorina I: 24
Papilio memnon III: 314
Paracentrotus II: **43**
Parascaris II: 25–26
– *aequorum* (*Ascaris megalocephala*) II: 24
Patella vulgata I: **87**; II: 16; III: **301**
– *coerulea* II: 16
Patiria I: **117**
Pectinaria I: **41**
Penaeus III: **295**
Peripatopsis I: 41
Pikaia gracilens III: 298, 299
Pheidole III: 318
– *pallidula* III: 317
Phestilla sibogae III: 182
Philippia radiata III: 182
Physarum polycephalum II: 220
Placopecten magellanicus III: 182
Planococcus citri II: 110
Pleodorina I: **24**
– *californica* I: 25
Podarke III: **300**
Polygordius III: **301**
Porites compressa III: 182
– *lobata* III: 182
Proteus anguinus III: **306**

Pterigota III: 302
Pycnoscelus surinamensis II: 275

Rana I: 67; III: 105, 172
– *catesbeiana* III: **169**
– *esculenta* II: 43
– *pipiens* I: **75**; II: 71, **72**, **74**, 75; III: **162**, 260, 275
– *temporaria* (*fusca*) II: **43**
Rheidole bicarinata III: 199
– *instabilis* III: **199**
Rostanga pulchra III: 182

Saccocirrus I: **41**
Serratia marcescens II: 83
Servanus scriba III: 252
Siren III: 171
Smittia II: 35; III: 134
Smyrna blomfieldia III: **90**
Solaster III: 309
Sparus auratus III: 253
Spherechinus II: 206
Spirogale putorius III: 319
Spisula I: 41, 56; II: 202, 214
Streptomyces albus II: 83
Strongylocentrotus II: 206
– *drobachiensis* I: 45
– *franciscanus* I: 46
– *purpuratus* I: 42, 45–47, **113**; II: **106**, 216
Styela II: 15
– *partita* I: 67, **68**, 87–88; II: 8, 9
Stylocheilus longicauda III: 182
Stylonychia I: **16**
Synapta I: 77, 78
– *digita* I: 76

Teredo navalis III: 182
Tetraclita III: 295

Tetrahymena II: 191
Thalassema I: **41**
Thomomys III: **316**
Tonicella lineata III: 182
Toxoplasma gondii I: 179
Toxopneustes lividus I: 36
Treponema pallidum I: 179
Trinchesia aurantia III: 182
Triturus cristatus II: 52, 122
– *vulgaris* (*taeniatus*) II: **50**, 52
Trochus I: **84**
Trypanosoma brucei II: 99
Tubifex III: **300**
Tubularia indivisa III: 182

Uca pugnax III: 198, **199**
Ulva III: 182
Unio I: 86; III: 296
Urechis I: 54

Veratrum californicum I: 197
Vertebrata III: 304
Vestimentifera III: 301
Volvox I: **24**, 26–28
– *carteri* I: 25

Wachtliella II: 26
– *persicariae* II: 25

Xenopus I: **68**, 69, 102; II: 16, 57–60, 85, 104, **106**, 129, 141, 146, 166, 169, 185, 202, 210, **211**, **217**, **218**, 228; III: 12, 13, 28, 45, 53, 74, **80**, 117–119, 123, 167, 172, 173, **260**, 276–277, 279, 280, 302, 320
– *laevis* I: 101, 106, 118, **119**, 129; II: 74–75, **105**, 115–118, 127, **128**, **195**, **216**; III: 116, **166**, 168, 259, 275, 278

Предметный указатель

Номера страниц, набранные жирным шрифтом, относятся к рисункам

- Агрегация гистотипическая III: 9
– дифференциальное сродство клеток III: 9
– клеток III: 6–7
– молекулы клеточной адгезии III: 25–27
– у губок I: 31–32
– слизевиков I: 29–30
АДГ *см.* Алкогольдегидрогеназа
Адгезионные молекулы субстрата III: 34–43
Адгезия III: 8. *См. также* Молекулы клеточной адгезии; Молекулы адгезии к субстрату
– дифференциальная III: 42
– лимфоцитов III: 73
– миграция нейронов III: 110–113
– термодинамическая модель III: 13–15
Аденилатциклаза III: 170
– мембранный транспорт III: 170
Адреналин: II: 6
Адренергические нейроны I: 174–175
Адренокортикотропный гормон (АКТГ), посттрансляционная регуляция II: 219–220
Адреналиновые клетки III: 171
5-Азациитидин II: 156, 157
Акрозин I: 49
Акрсомная реакция I: 43–45
– у млекопитающих I: 48
Акрсомный вырост I: 37
– пузырек I: 37
– и сперматогенез III: 271–272
Аксотомия мутации, обусловленные материнским эффектом II: 209–211
– неопения III: 170–171
Аксон(ы) I: 157, 160–163
– контактное ориентирование III: 12–13, 110
– конус роста I: 160, **162**, III: 112
– выделение серотонина III: 115
– микрофиламенты I: 160, **162**
– рост и миграция III: 109–116
– направленный III: 110–116
– спинного мозга III: 114
Аксонема I: 38–39
АКТГ *см.* Адренокортикотропный гормон
– надмолекулярная сборка II: 226–227
– образование акросомного выроста I: 45
– формирование нервной трубки I: 148–150, **152**
– индуция балансиров III: 57
– хрусталика III: 53–54
– клонирование II: 71–77
– материнский эффект II: 209–211
– метаморфоз III: 161–171
– миграция нейронов III: 114
– половых клеток III: 259–260
– многоголось III: 99
– образование почки конечности III: **81**
– перемещение цитоплазмы I: 67–69
– поле конечности III: 98–99
– ретиноиды III: 106
– созревание ооцитов (оогенез) II: 275–281
– тип дробления I: 81–83
– формирование нервной трубки I: 148, 150, **152**
– хромосомы типа ламповых щеток II: 122–123
– эволюция головного мозга I: 159
Анафаза I: **15**, 23; III: **264**, 265
Ангиобласты I: 205
Ангиогенез I: 203–205
– индуцированный опухолью I: 209–211
Ангиогенез I: 209
Ангиогенные скопления (кровяные островки) I: 205
– факторы I: 205
Анимальная чаша I: 127
Анимальное полушарие I: 75. *См. также* Полярность
– локализация материнских мРНК II: 211
– мезодермальная индукция II: 58–60
– развитие морского ежа I: 77–78, II: 43–47
Аномальные зародыши, спонтанные аборты I: 178
Антибиотики, устойчивость к ним II: 83–84. *См. также* Актиномицин D
Антиген(ы), беременность I: 141–142
– главного комплекса тканевой совместимости I: 141
– детерминация лимфоцитов II: 93–94, 97–99
– дифференцировка В-клеток III: 70–72
– дифференцировочные II: 183–184; III: 22

- клеточной поверхности Мезо I: 114
- нейронные связи III: 120
- поверхностные III: 6
- процессинг РНК иммуноглобулинов II: 186-187
- фоторецептора у дрозофилы III: 24
- H-Y, детерминация пола III: 239-240
- Антимюллеровский гормон (АМГ), ген III: 240
- и формирование мужского фенотипа III: 242-243
- развитие гонад III: 234, 236
- Антитела см. Иммуноглобулины
- Антрум III: 286
- Анэнцефалия I: 151
- Аорта I: 202, 203, 204, 206, 207, 208, 209, 218
- Апикальная эктодермальная шапочка III: 94
- Апикальный эктодермальный гребень (АЭГ) III: 81, 82
- индукция конечности III: 82-84
- полярность конечности III: 98-102
- Аполипопротеин В (apo-B) II: 219
- Артериальный проток у плода I: 209
- ствол I: 202, 204, 207, 262
- Артерии, формирование I: 203-207
- Архентерон (гастроцель) I: 116
- у амфибий I: 119-120, 125-127
- морского ежа I: 116-118
- Археопит I: 31-32
- Архипаллиум (старая кора) I: 159
- Аутокринная стимуляция III: 213
- Аутосомы III: 239-240, 247, 252
- Аутофосфорилирование III: 216
- Ацетилгалактозамин (N-ацетилгалактозамин), синапсы III: 120-121
- Ацетиллюкозамин (N-ацетиллюкозамин), прикрепление гамет I: 49-50
- Ацетилхолин I: 174, 175; II: 6
- Ацетилхолинэстераза и дифференцировка у оболочников II: 9-11
- Ацинусы (ацинарные клетки) III: 63-64
- АЭГ см. Апикальный эктодермальный гребень
- Базальная мембрана I: 112-114, 188, 189, 205; III: 34
- и гаструляция у морского ежа I: 114
- дифференцировка клеток III: 42-43
- сомита I: 188
- пластинка III: 34, 39, 40, 43, 70
- Базальный диск III: 91
- (герминативный) слой эпидермиса I: 175, 176
- Бактерии, половой процесс I: 20, 21. См. также Кишечная палочка
- Белки, см. также Коллаген, Гемоглобин, Иммуноглобулины
- адресование в лизосомы II: 224-225
- мембраны II: 224-225
- митохондрии II: 225-226
- ядра II: 225
- альтернативный синтез II: 186-189
- группы высокой подвижности (HMG) II: 166-167
- клеточной поверхности и компактизация I: 91-92
- комплексы с нуклеиновыми кислотами II: 228
- концевые аминокислоты и стабильность II: 222
- молока III: 183, 186
- надмолекулярная сборка II: 226-228
- ооциты амфибий III: 276
- регулятор транскрипции (TFIIIA) II: 127-130
- сборка II: 226-228
- секреция II: 224
- слюнных желез насекомых II: 101-103
- спермий-специфические III: 271-272
- субклеточная компартментализация II: 224-226
- синтез после оплодотворения I: 65
- в энуклеированных ооцитах II: 207-208
- ингибирование антибиотиками I: 18
- у прокариотов и эукариотов I: 14-16
- «фузогенные» I: 53
- NF II: 153-154
- G-белок 64, 67
- Белочная оболочка (tunica albuginea) III: 235, 236
- Беременность, иммунное подавление III: 72-73
- и тератогены I: 178-181
- продолжительность I: 159
- развитие молочной железы III: 185-186
- Бесполое размножение у вольвокса I: 27-28
- гидры III: 91
- Бесхвостые амфибии, метаморфоз III: 162. См. также Лягушки
- Библиотека клонов II: 85, 104
- Бивалент (тетрада) III: 265
- Билатеральное дробление см. Дробление
- Биндин I: 45-46, 47
- роль в слиянии клеток I: 53
- Биогенетический закон III: 309-310
- Биполярные нейроны I: 165-166
- Бластема регенерационная III: 94
- регенерация конечности III: 15, 95-94
- Бластодерма I: 97, 99, 100
- клеточная у насекомых I: 99-100; II: 26-28; III: 134
- синцитиальная I: 99-100, II: 26-29; III: 134
- Бластодиск I: 97, 131
- Бластомеры I: 12, 74; II: 8-12, 16-19, 20; III: 8-11
- Бластопор I: 116, 119-120
- губа(ы) I: 120-125, 126
- спинная I: 123-125
- как организатор II: 53
- роль в формировании гастроцеля I: 125
- Бластоцель I: 77, 120, 130
- крыша I: 130
- компактизация I: 90
- у морского ежа III: 114-118
- птиц I: 132, 133-135
- формирование у лягушки I: 81-83
- морского ежа I: 78-81
- Бластоциста I: 91
- дифференцировка I: 93-94
- компактизация I: 91-92
- освобождение от прозрачной оболочки I: 95-96
- Бластула I: 12, 76, 77, 132; III: 8
- задержанная (dauerblastula) II: 44, 45, 46, 47
- ограничение потенциалов ядер I: 71-73
- у иглокожих I: 78-81
- фермент выплывания I: 81
- формирование после энуклеации II: 308
- яРНК II: 180-181
- Ближние взаимодействия III: 51. См. также Эпителио-мезенхимные взаимодействия
- инструктивные III: 51-52
- индукция хрусталика III: 52-55
- разрешающие III: 51
- Визнецы I: 95-97
- фримартини III: 240
- Блоттинг, методы II: 88-90, 105, 106
- Боковые коленичатые тела III: 123
- Бокс Голдберга-Хогнеса (ТАТА-бокс) II: 142-144
- Большие полушария I: 153
- Борозда дробления I: 81, 82, 103-106
- Боуменова капсула III: 61
- Бронхи III: 62-63
- Бугорок оплодотворения I: 51
- Бурсин I: 215
- Бэра законы I: 145-147
- Вариабельная область молекулы иммуноглобулина II: 95-99
- Васкуляризация и рост опухоли I: 209
- Вегетативная пластинка I: 111, 112
- инвагинация I: 115-117
- Вегетативное полушарие I: 75
- Вегетативный полюс I: 77. См. также Полярность
- детерминация половых клеток II: 29-30
- индукция мезодермы II: 58
- материнские мРНК II: 211
- Веллос I: 177
- Венозный синус I: 202, 204
- Вентральная борозда III: 132
- Веретено I: 15
- Взаимодействие клетка-субстрат, гипотеза дифференциальной адгезивной специфичности III: 111-113
- контактной ориентации III: 110
- меченых путей III: 110
- хемотаксиса III: 113-115
- Вирус(ы)
- вакуолизирующий (SV40) II: 185-186
- иммунодефицита человека (СПИД) II: 154; III: 72
- как онкогены III: 209-213
- коры III: 75

- кошачьей саркомы *Мак-Донау* III: 215
- крысиной саркомы *Гарвея* III: 220
- мышинной лейкемии *Абельсона* III: 211, 213
- саркомы *Молони* III: 211
- *Гарвея* III: 212, 216
- *Кирстена* III: 212, 216, 220
- обезьяньей саркомы III: 211
- осповакцины II: 186
- остеосаркомы *ФВБ* III: 212
- поперечные связи с поверхностью клетки III: 73–76
- птичьего лейкоза (*ВПЛ*, *ALV*), инсерция промотора и канцерогенез III: 221
- миелоцитоматоза III: 212
- эритробластога III: 211–212, 213
- рака молочной железы мыши II: 164
- саркомы *Рейса* III: 210, 211, 216
- *Синда* II: 77, 93
- Вирусные онкогены III: 209–213
- список III: 211–212
- Витализм II: 43
- Витализация окрашивания методы I: 188
- Витамин А I: 179–180; III: 103–106, 163
- Вителлогенез у амфибий III: 275–277
- Вителлогенин II: 218; III: 276, 277
- Вложения теория II: 6
- Внезародышевые оболочки I: 200, 201. См. также Амнион, Аллантоис, Желточный мешок, Хорион
- Внеклеточный матрикс III: 34–42
- индукция дифференцировки III: 42–43
- миграция клеток нервного гребня I: 172–174
- формирование кости I: 197
- Внутренняя клеточная масса I: 91
- Водорода ионы и активация яйцеклетки I: 64–67
- Волокна стресса III: 13
- Волос(ы) I: 176–177
- Волосная луковица I: 177
- Волосной фолликул I: 177; III: 8
- Вольфов канал III: 234–236, 237, 242
- Вольфовская регенерация II: 70
- Воронка I: 219; III: 187
- яйцевода II: 123
- Воспринимающий буторок III: 51
- Временной энхансер II: 146
- транскрипция II: 137–141
- трансфекция II: 87–88
- Врожденные аномалии I: 178–182. См. также Тератогены
- анэнцефалия I: 151
- двойное сердце (*cardia bifida*) I: 202
- недостаточность гликопротеина *LFA-1* III: 73
- *spina bifida* I: 159
- Вторичная индукция II: 61–62; III: 61–63
- Вторичная мезенхима, гаструляция у морского ежа I: 112, 117–118
- Вторичные половые признаки III: 187
- Вторичноротые I: 31, 32–33
- «Второй посредник» III: 170
- Выворачивание III: 176–178
- ГАГ см. Гликозаминогликаны
- Галактоза и связывание гамет I: 150
- β-Галактозидаза и lac-оперон II: 41
- концевые аминокислоты и стабильность II: 222
- Галлицы II: 25–26, 35
- Гальванотаксис III: 12
- Гаметогенез I: 12, 13; III: 259
- у вольвокса I: 25
- Гаметы I: 12, 35. См. также Яйцо; Ооциты; Спермий
- Ганглий(и) I: 169
- дорсальных корешков I: 169, 170
- миграция нейронов III: 113–114
- у пиявки III: 131
- элиминация синапсов III: 124–125
- Ганглиозные клетки сетчатки I: 164–166
- синаптическая специфичность III: 117–121
- Ганглотаксис III: 10–12
- Гастроцель см. Архентерон
- Гаструляция I: 12, 110–111
- дифференциальная экспрессия генов II: 30–36
- изменение потенции клеток II: 50
- роль гликозилтрансферазы III: 32–34
- у амфибий I: 13, 118–131
- дрозиды III: 131
- морского ежа I: 111–118
- Гель-электрофорез см. Электрофорез
- Гем II: 202, 203
- Гемиметаболические насекомые (с неполным превращением) III: 175
- Гемия II: 202, 203. См. также Глобиновые белки
- Гемоглобин II: 6
- серповидно-клеточная анемия II: 228
- строение II: 202
- трансляционный контроль синтеза II: 202–204
- фетальный (плода) и взрослый I: 207, 208–209
- эмбриональный II: 126
- Гемопоз (кровотворение), локализация I: 212–217
- Гемопозитин I: 215
- Гемопозитические факторы роста III: 213–215
- Гемопозитическое индуцирующее микроокружение (ГИМ) I: 215
- Ген(ы)
- алкогольдегидрогеназы II: 90
- аутосомные III: 239–240
- гаплоидный ген, экспрессия III: 272
- глобиновые, контроль над уровнем трансляции II: 202–206
- метилирование II: 155–156
- последовательность нуклеотидов II: 138
- промотор II: 143
- сайты сплайсинга II: 190–191
- транскрипция II: 125–127
- чувствительность к ДНКазе II: 166–167
- гомеозисные III: 147–151
- строение III: 153, 154, 155
- эволюция III: 157
- иммуноглобулинов, легких цепей II: 95–99
- транскрипция II: 151–154
- тяжелых цепей II: 99
- транскрипция II: 154
- индукция II: 57–59
- клонирование II: 81–85
- контроль путем метилирования ДНК II: 155–159
- лимфоцитов II: 93, 95–99
- с материнским эффектом III: 133–139
- с отцовским эффектом II: 272
- продукция хлорамфениколацетилтрансферазы (*XAT*) III: 152–153
- промотор III: 153
- сегментации III: 134–139, 142–144
- дрозофилы III: 142–146
- последовательная экспрессия III: 144–147
- регуляторное взаимодействие III: 147, 151–153
- регуляция и эволюция III: 59–60
- специфические, *abd* III: 148, 150
- *Antennapedia*, комплекс III: 147–148, 303
- *Antennapedia* (*Antp*) III: 147, 152, 154–156
- *Deformed* (*dfd*) III: 148
- *sex comb reduced* (*scr*) III: 148, 152
- мутации III: 148, 157–158
- эволюция насекомых III: 157, 303
- *bicaudal* (*bic*) II: 33–34; III: 151
- *Bicaudal D* (*Bic*) III: 135, 138
- *bicoid* (*bcd*) II: 33, III: 134–138, 151, 155, 284
- *bithorax*, комплекс III: 148–151, 157, 303
- *anterobithorax* (*abx*) III: 150
- *bithorax* (*bx*) III: 148, 150
- *Polycomb* (*Pc*) III: 149, 150
- *posteriorbithorax* (*pbx*) III: 150
- *Ultrabithorax* (*Ubx*) III: 148, 149, 151–152, 154
- мутации III: 148–151
- эволюция насекомых III: 151, 303
- *bithoraxoid* (*bxd*) III: 150, 151
- *caudal* (*cad*) II: 33–35; III: 147, 151, 155
- *c-fos* II: 206; III: 212, 215, 218
- *c-mos* III: 290
- *c-myc* III: 212, 215, 218, 220–221
- пролиферация клеток крови III: 209
- *doublesex* (*dsx*) II: 189, 190; III: 248, 250
- *daughterless* (*da*) III: 249
- *engrailed* III: 146, 155
- *even-skipped* III: 155
- *exuperantia* III: 134, 135, 137, 284
- *fem* III: 252, 267
- *fog* III: 267–269
- *fs* (*J*) N III: 134, 135
- *fs* (*J*) ph III: 134, 135
- *fushi tarazu* (*ftz*) III: 143–144, 147, 151–155
- гомеобокс III: 155

- элемент «Зебра» III: 153, 155
 — gap, группа III: 132–133, 143, 144, 151
 — регуляторные элементы III: 153, 154
 — *glp* III: 267
 — *grandchildless* II: 29
 — *hairy* III: 155
 — *her* III: 252, 268
 — *Hox* III: 105, 156, 303
 — *hunchback (hb)* III: 136–137, 139, 143, 144, 145, 151
 — *jun* III: 212
 — *intersex (ix)* III: 248
 — *knirps* III: 145, 143
 — *Krüppel (Kr)* III: 134, 138, 143, 144
 — *lin* II: 130–133; III: 79–80
 — *mog* III: 268, 269
 — *multiple wing hair* III: 140
 — *nanos (nos)* III: 134, 135, 137–138, 139
 — *oskar* II: 33; III: 134, 135
 — *ovarian-determining (Od)* III: 241
 — pair-rule, группа III: 132–133, 144–146
 — *pumilio (pum)* III: 135, 138
 — *run* III: 143, 155
 — *Sdc* III: 252
 — segment-polarity, группа III: 132–133, 143
 — *Sex-lethal (Sxl)* III: 247–250, 252
 — *sevenless* II: 132
 — *sisterless (sis)* III: 249
 — *src* III: 210
 — *SRY* III: 239
 — *staufen (stau)* III: 134, 135
 — *swallow* III: 134, 135, 137, 284
 — *tailless* III: 134, 139
 — *Tas* III: 240, 241
 — *Tdf* III: 237, 241
 — *Testis determining-Y (Tdy)* III: 241
 — *torsoless* III: 139
 — *torsoless (tsl)* III: 134, 135
 — *transformer (tra)* II: 190, III: 250, 252, 267–269
 — *trunk (trk)* III: 134
 — *tudor (tud)* III: 134, 135
 — *valios (val)* III: 134, 135
 — *vasa (vas)* III: 134, 135
 — *white* II: 100
 — *zerknult (zen)* II: 33
 — *XO-lethal (XOl)* III: 252
 — тимидинкиназы II: 87–88
 — хориона, амплификация II: 120
 — Y-хромосомы III: 236–239
 — строение I: 14
 — трансфекция II: 87–88
 Генетика и развитие II: 109–110
 — развития II: 65, III: 321
 Гензеновский узелок I: 131, 132, 150
 — индукция нервной трубки II: 53
 — у млекопитающих I: 150
 — птиц I: 150
 — изменения II: 99–100
 Геном, сложность II: 83
 — сроки активации II: 216–217
 Гепарансульфат III: 36, 37
 Гепатоцит II: 6
 Гермафродитизм III: 251–253
 — синхронные гермафродиты III: 252
 — у *C. elegans* II: 20; III: 251
 Герминативный серп III: 261
 — слой эпидермиса см. Базальный слой эпидермиса
 Гетерогамия I: 25
 — у вольвокса I: 25–28
 Гетерогенная ядерная РНК (гЯРНК) II: 177–178. См. также яРНК
 Гетерохроматин II: 110
 — конститутивный и факультативный II: 110
 — отцовский II: 110
 Гетерохрония III: 170–175, 314
 Гиалин I: 55, 114
 Гиалиновый слой I: 55, 112–113, 114
 Гиалуронидаза I: 48
 Гиалуроновая кислота в матриксе яйца I: 40, 42, 48, 61
 — и гаструляция у птиц I: 135–136
 — индукция хрусталика III: 56
 — миграция клеток нервного гребня I: 173–174
 — как компонент протеогликанов III: 35, 36
 Гибель клеток III: 124–125
 — в молочных железах самцов III: 184–185
 — процессе метаморфоза у амфибий III: 165–167
 — морфогенеза III: 5
 — формирования кости I: 195–197, 198
 Гибридизация in situ II: 92, 122
 Гибридома III: 22
 20-Гидроксизакхидон см. Экдистерон
 Гидролиз ГТФ в ГДФ III: 217
 — и формирование микротрубочек II: 227
 Гидроцель III: 59
 — прямое развитие III: 172
 Гинандроморфы III: 247
 Гиперплазия III: 202
 Гипертрофия III: 202, 203
 Гиперстриатум I: 159
 Гиперчувствительность к ДНКазе II: 163–164, 165
 Гипобласт I: 98, 131, 134
 — и формирование первичной полоски I: 135
 — у млекопитающих I: 137–139
 — птиц I: 135, 136
 Гиподерма у *C. elegans* II: 21, 22
 Гипоксантинфосфорибозилтрансфераза (ГФРТ) II: 112, 156; III: 21, 22
 Гипостом у гидры III: 91–92
 Гипоталамус (эпифиз) III: 154
 — и метаморфоз амфибий III: 163–164, 165, 171, 172
 — половое созревание III: 187–189
 — эстроген III: 245
 Гипофиз I: 219, 220
 — и менструальный цикл III: 284–287
 — метаморфоз у амфибий III: 164–165, 172
 — половое созревание III: 187–180
 — посттрансляционная модификация гормонов II: 220
 — происхождение I: 219
 Гиппокамп (старая кора) см. Архипаллиум
 Гистамины, поперечные связи III: 74–75
 Гистиобласты III: 176
 Гистоны I: 14; II: 159–162
 — ацетилирование II: 221
 — в ооците III: 275
 — и посттрансляционная модификация II: 220–221
 Гистотипическая агрегация III: 9
 Глаз, вторичная индукция II: 61–63
 — имплантация опухоли I: 209, 210
 — развитие I: 163–169
 — регенерация хрусталика II: 70
 — сенсорная депривация в зрительной системе млекопитающих III: 122–124
 — смещение при метаморфозе III: 167, 168
 Глазная чаша I: 164; II: 62
 Глазной пузырь I: 153, 154, 163–165; II: 62
 — индукция хрусталика III: 52–56
 — стебелек I: 153, 154, 164
 Гликозаминогликаны (ГАГ) во внеклеточном матриксе III: 35
 — и миграция клеток I: 188–190
 — нейронов III: 113
 — переваривание клетками мезенхимы III: 70
 Гликозилтрансфераза клеточной поверхности III: 32–34
 — связывание гамет I: 49–50
 Гликопротеины I: 40, 49, 50; III: 37–44, 72–74
 Глотка I: 219, 221
 Глоточные карманы I: 219
 Глохидий I: 86
 Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г6ФД) и инактивация X-хромосомы II: 112–113
 β-Глюкуронидаза, внутриклеточная локализация II: 225
 Голоблестическое дробление I: 75, 76
 Головная (цефалическая) складка III: 132
 Головной отросток I: 133
 — мозг, дифференцировка I: 155–157
 — эволюция I: 159–163
 Голометаболические насекомые (с полным превращением) III: 175
 Гомеобокс III: 155–156
 Гомеодомен III: 155–156
 Гомеозисные мутации III: 69
 Гомункулус I: 36
 Гонадотропины III: 187, 188, 277, 289–290
 — менструальный цикл III: 284–285
 См. также Фолликулостимулирующий гормон; Лютеинизирующий гормон
 Гонады I: 12
 — дифференцировка у человека III: 234–236
 — индифферентная стадия III: 236
 — нематоды *Caenorhabditis elegans* II: 20, 22, 23
 — протоки III: 235, 236, 237
 — развитие в пубертатный период III: 187–189
 Гонидии I: 27

- Гонохористическая детерминация пола III: 252
- Гормон роста (соматотропин, ГР) II: 144; III: 204–205
- пролиферация хрящевых клеток I: 196
- стабилизация специфических мРНК II: 218
- Гормон(ы) III: 161, 170
- вторичная детерминация пола III: 241–244
- дифференцировка клеток нервного гребня I: 175
- меронистический оогенез у насекомых III: 283
- метаморфоз у амфибий III: 163–172
- насекомых III: 179–181
- оогенез у амфибий III: 277–278
- первичная детерминация пола III: 234, 236
- поведенческие реакции, обусловленные полом III: 241–244
- половое созревание III: 187–189
- посттранскрипционная модификация II: 219–220
- развитие молочных желез III: 183–186
- регуляция менструального цикла человека III: 285–288
- рост III: 204–207
- стабилизация специфических мРНК II: 217–218
- транскрипционная регуляция II: 146–147, 150–151
- формирование костей I: 198
- хориона I: 140–141
- Граафов пузырек III: 285
- Гранулоциты, развитие I: 212–213
- Гранулярный (зернистый) слой эпидермиса I: 175–176
- Гребневика, радиальная симметрия I: 32
- ГТФ I: 66, 67; II: 203, 227; III: 216–217
- Гуанофосфат I: 170
- Губки I: 31–32
- ГФРТ см. Гипоксантинфосфорибозилтрансфераза
- гяРНК см. Гетерогенная ядерная РНК
- DALA-синтетаза II: 202
- Двустворчатые моллюски, тип деления и эволюция I: 85–86
- Делифференцировка II: 70
- после ампутации конечности у амфибий III: 94
- Дезоксинуклеотиды II: 85, 86
- Дезоксирибонуклеаза см. ДНКазы
- Деламинация I: 110
- Деление ядер см. Кариокинез
- Дендритный аппарат I: 157
- Дендриты I: 160
- Дерма см. Кориум
- I: 176–177
- агрегаты клеток III: 7–8
- Дерматом I: 173, 174, 190
- Дерматансульфат III: 36
- Дерматом I: 190
- Десмосомы I: 152; III: 44
- Детерминанты полярности II: 30–36
- Детерминация II: 5
- и спецификация III: 90
- пола вторичная III: 241–244
- и альтернативный процессинг РНК II: 189–190
- аутосомные гены III: 239–240
- условия окружающей среды III: 254–256
- первичная III: 240–241
- у дрозофилы III: 246–250
- млекопитающих III: 240–241
- половых клеток II: 24–30, 31
- у *C. elegans* II: 20–23
- хрусталика III: 55
- Диакнез III: 264, 265
- Дианауза III: 179
- Диapedез III: 261–262
- Диацилглицерол II: 64, 66–67
- Дивертикул щитовидной железы I: 219
- Дигидротестостерон III: 212
- Дидеоксинуклеотиды II: 85, 86
- Диктиатная стадия III: 285
- Диминуция хроматина см. Хроматин
- Динейн, I: 38
- Динозавры, определение пола и вымирание II: 254
- Диплотена III: 264, 265
- Дискоидальное деление I: 97
- Дискоидин I: 30
- Дистальная трансформация см. Правильно полного круга дистальной трансформации
- Дифференциальная специфичность III: 111–115, 119–121
- экспрессия генов II: 65, 92
- временная и тканеспецифическая II: 105–106
- образование пучков хромосом II: 100–101
- парадигма II: 107
- Дифференциальное сродство клеток III: 6–10
- Дифференциальной адгезии гипотеза II: 14
- адгезивной специфичности гипотеза (гаптотаксиса) III: 111–113
- Дифференцировка I: 12, II: 5, III: 5
- значение внеклеточного матрикса III: 42–43
- и гормоны III: 161
- эволюция I: 17–31
- нейробластов у кузнечика III: 110–111
- одноклеточных протист I: 18–19
- у слизевиков I: 29–31
- Диффузия и план строения тела III: 193
- морфогена ЗПА III: 103
- морфогенов III: 93
- растворимых сигналов III: 64
- Диэтилstilбэстрол (ДЭС) II: 125
- ДКЗ см. Дорсальная краевая зона
- ДНК, амплификация генов II: 115–118
- генов антител II: 95–99
- гибридизация II: 81, 82
- денатурация II: 28
- дидеокси-метод секвенирования II: 85–87
- затравка (праймер) III: 85, 86
- как *cis*-регулятор II: 402
- метилирование II: 155–158, 164
- образование пучков II: 102
- «плутеус-плюс» и «плутеус-минус» II: 181
- повреждение и старение III: 272
- повторяющаяся II: 179, 180
- прокариот и эукариот I: 12–16
- связь с ядерным матриксом II: 167–169
- синтез в процессе оогенеза III: 281
- специфическая для Y-хромосомы III: 237–239
- типы Z и B II: 169–171
- трансфекция II: 87
- хроматина II: 159–162
- В-ДНК II: 169–171
- ДНКазы II: 91
- активация хроматина II: 162–164
- гиперчувствительность II: 164
- и метаморфоз у амфибий III: 165
- ДНК-блоттинг II: 88–89
- ДНК-лигаза II: 81
- ДНК-полимераза см. ДНКазы
- ДНК-связывающие «пальцы» II: 129
- Дорсальная губа blastopora см. Губа blastopora
- краевая зона (ДКЗ) II: 186–199
- (паракиральная) мезодерма см. Мезодерма
- Дорсальный мезентерий, миграция первичных половых клеток III: 260–261
- Дот-блоттинг II: 105, 106
- Древняя кора (палеопаллиум) I: 159
- Дробление I: 12, 74
- в отсутствие ядра II: 207
- глобальное I: 75, 76
- билатеральное I: 87–88
- неравное I: 81–82
- радиальное I: 33, 76–83
- спиральное I: 33, 83–87
- чередующееся I: 88–91
- и материнские мРНК II: 215–216
- эволюция I: 85–87
- инициация I: 101–102
- меробластическое I: 75
- дискоидальное I: 75, 97, 98
- поверхностное I: 75, 97, 99–101
- перемещение цитоплазмы I: 69, 120–122
- роль циклинов II: 216
- скорость I: 74
- спецификация у оболочников II: 8
- у амфибий III: 81–82
- моллюсков II: 16–20
- Дрожжи, типы спаривания II: 99
- Дрозофила (*Drosophila*), активация генома II: 216–217
- амплификация генов хориона (оболочки яйца) II: 115, 120
- гастрюляция III: 132
- ген алкогольдегидрогеназы II: 90
- гены желточных белков II: 92
- с материнским эффектом II: 32–33; III: 142, 151
- детерминация пола II: 189–190; III: 246–250
- половых клеток II: 25–29

- дорсовентральная полярность и мутации II: 31–36
- дробление I: 97–101
- имагинальные диски II: 67, III: 176–178
- крыловые диски III: 141–142
- мероистический оогенез III:
- мутации как маркеры II: 27–29
- политемные хромосомы II: 121–123
- пути образования хромосомных пуфов II: 101–105
- развитие (обзор) III: 130–132
- регуляторное взаимодействие генов III: 151–153
- рекрутирование мРНК II: 213
- скорость митозов при дроблении I: 74–75
- трансдетерминация II: 67–70
- транспозоны и мутации II: 100
- фоторецепторные клетки III: 22–23
- хромосомы типа ламповых щеток III: 281–284
- цитоплазматические детерминанты II: 30–36
- эволюция и гомеостатические гены III: 157
- энхансеры желточных белков II: 147–150
- Дуги аорты I: 203–207
- Дупликация пальцев III: 95
- ДЭС см. Дистилстильбэстрол
- Евстахиева труба I: 219
- Единица миграционной активности I: 111
- Жабрные дуги III: 311–312
- дефекты развития I: 180
- щели I: 219
- Жгут(и) спермиев I: 38–39; III: 271
- у амебофлагеллаты *Naegleria* I: 18–19
- Железы слюнные I: 177
- Желтое тело III: 287
- Желток I: 33
- и гастралция у птиц I: 131
- роль в процессе дробления I: 75–76, 97
- Желточная оболочка I: 40, 41
- биндиновые рецепторы I: 46
- у птиц I: 136, 137
- пробка I: 119
- Желточные белки I: 39–40
- гены II: 92
- синтез у дрозофилы III: 283
- энхансеры II: 147–150
- вены I: 202, 204, 205
- пластинки I: 69, II: 30
- и полярность ооцита III: 276–277
- Желточный мешок I: 33, 200, 201
- и система кровообращения у зародыша I: 205, 206
- миграция половых клеток у млекопитающих III: 260
- образование стволовых клеток крови I: 215–219
- проток I: 200
- Желтый серп I: 67–68; II: 6, 8, 12, 15
- Желудок III: 119, 120
- Желудочки сердца I: 204, 209
- Желчный пузырь I: 219–220
- Жидкостно-мозаичная модель мембраны III: 15–16
- «Жизненная энергия» (*Vis essentialis*) II: 7
- Жизненный цикл слизевиков I: 28–31
- лягушки I: 13
- Жировые клетки (адипоциты), гипертрофия III: 202
- тела, синтез желточных белков II: 147–149
- Задержанная бластула см. Бластула
- Задний мозг (*Metencephalon*) I: 153, 154
- Замораживания–скалывания метод III: 16
- Зародышевая плазма I: 30
- полоска I: 90
- Зародышевой плазмы теория II: 39–40
- Зародышевые листки I: 12. См. также Эктодерма; Энтодерма; Эпителио-мезенхимные взаимодействия; Мезодерма
- и формирование сердца I: 201–202
- производные I: 187
- у амфибий I: 120
- дрозофилы III: 132
- оболочников I: 88; II: 8–11
- позвоночных I: 147
- птиц I: 131, 133
- Зародышевый пузырек III: 274
- дезинтеграция III: 277, 278
- Звезды митотического веретена и борозды дробления I: 104–106
- Зернистый слой мозжечка I: 157
- Зигота I: 11, 53, 59
- Зиготена III: 263, 264
- Зона поляризующей активности (ЗПА) III: 102–105
- реакционно-диффузионная модель III: 157
- прогресса (ЗП) III: 95, 100, 101
- Зрительная кора III: 123
- сенсорная депривация III: 123–124
- Зрительный нерв I: 164
- тектум III: 117
- Игазин II: 225
- Иглокожие, метаморфоз и окружающая среда III: 181–182
- тип дробления I: 77–81
- эволюция плана строения тела III: 59
- Избирательное сродство III: 7–10
- Изогамия I: 25
- Изолецитальное яйцо I: 75, 76
- Изометрический рост, логарифмическая спираль III: 194–197
- Изоцитратдегидрогеназа I: 192
- Изоферменты II: 222–224
- Изоформы I: 199–200
- гемоглобина I: 208–209
- ИКЗ см. Инволюирующая краевая зона
- Имагинальные диски II: 67–70; III: 176–177
- гиперплазия III: 202
- детерминация клеток III: 157–158
- крыла III: 141–142
- трансдетерминация II: 69
- формирование III: 140–142
- Имитация переносчиков сигнала и онкогены III: 216–217
- Иммунная система, старение III: 224–225
- Иммуноглобулин(ы) II: 6. См. также Ген(ы)
- дифференциальный процессинг РНК II: 186–188
- и онкогенез III: 221–222
- мембранные и секретируемые формы II: 186–187
- переключение классов II: 99
- поперечные связи III: 73–74
- сплайсинговые сайты II: 188
- строение II: 95
- транскрипция гена легкой цепи II: 151–154
- энхансеры II: 144–145, 146
- Импантация зародыша I: 91
- задержка III: 319
- Импринтинг II: 158
- Инвагинация I: 110
- у морского ежа I: 115–118
- Инверсия у вольвокса I: 27
- Инволюирующая краевая зона (ИКЗ) I: 126–127
- Инволюция I: 110
- Ингибиторы роста III: 208–209
- Ингрессия (иммиграция, выселение) мезенхимы I: 110
- у морского ежа I: 111–114
- Индуктор полового процесса I: 28
- Индукция II: 53, 61–62. См. также Эмбриональная индукция, Ближние взаимодействия, Вторичная индукция
- апикального эктодермального гребня (АЭГ) III: 82–84
- балансиров III: 57
- ветвления III: 68–70
- и поперечные связи III: 73–75
- конечности III: 81–84
- лимфоцитов и плазматических клеток III: 70–73
- первичная эмбриональная I: 147, III: 53
- механизмы II: 56–63
- региональная специфичность II: 53–56
- реципрокная III: 60
- Иницирующий комплекс II: 467
- Инсулин II: 6
- активация синтеза глюкозой II: 218
- аминокислотная последовательность II: 220
- предшественник II: 219
- Инсулиноподобные ростовые факторы (ИРФ) см. Соматомедины
- Интегрины III: 40–42
- Интегрирующие регуляторные единицы транскрипции (ИРЕТ) II: 184
- Интеркаляция и регенерация конечности III: 96–97
- Интеркинез III: 264
- Интерлейкин III: 71, 72
- как гемопотический ростовой фактор I: 215
- Интерфаза

- мейоза I: 23
 - митоза I: 8
 - γ-Интерферон (γ-ИНФ) III: 208–209
 - Интрамембранное окостенение I: 194
 - Интроны II: 137, 139, 140, 141, 190–193
 - Информосомы II: 218, 221
 - Ионофор A23187 I: 56, 63
 - Ионы I: 64–67; III: 12. *См. также* Кальция ионы; Натрия ионы.
 - ИРЕТ *см.* Интегрирующие регуляторные единицы транскрипции
 - Иридофоры I: 170
 - ИРФ *см.* Инсулиноподобные ростовые факторы
 - Кавитация I: 91
 - Кадгерин III: 27–28
 - Казени II: 217–218; III: 183, 186
 - Каллус II: 78
 - Кальций и акросомная реакция I: 43–44
 - роль в формировании кости I: 194–198
 - Кальцитонин II: 188
 - Кальцификация (обызвествление) I: 194–198
 - Кальция ионы
 - активация яйцеклетки I: 63–67
 - высвобождение гистамина («аллергические реакции») III: 74–75
 - инициация дробления I: 102
 - кортикальная реакция I: 55–58
 - миогенез I: 191
 - молекулы клеточной адгезии III: 27
 - фосфат и перенос генов II: 87–88
 - Капацитация I: 46
 - Капиллярные сплетения, образование I: 205
 - Карбамоилфосфатсинтаза III: 164, 170
 - Каркинез (деление ядра) I: 99, 103–104
 - Карликовость I: 178
 - Карман *Ratke* I: 218, 219, 220
 - Карта, *см. также* Зародышевые листки
 - активности позиционного сигнализирования III: 103
 - делений II: 128, III: 239
 - клеточных линий *C. elegans* II: 21
 - оболочников II: 11
 - нормальных ретино-текстальных проекций III: 117
 - презумптивных зачатков I: 118
 - у амфибий I: 119, 128
 - птиц I: 131–133
 - Карцинома мочевого пузыря III: 219
 - Катепсин III: 165, 166
 - κДНК *см.* Комплементарная ДНК
 - Кератин I: 175–176; II: 6
 - Кератинсульфат III: 36
 - Кератиноциты I: 176; II: 6
 - КЕТ *см.* Конструктивная единица транскрипции
 - Кислород и активация яйца I: 64
 - формирование кости I: 195
 - Кишечная палочка (*Escherichia coli*) и рекомбинантные ДНК II: 83
 - *lac*-оперон II: 141
 - сайт-специфичный мутагенез II: 90
 - трансляция разрыва (ник-трансляция) II: 91
 - Клетка(и) бокаловидные у вольвокса I: 28
 - бурстообразующие эритроидного ряда (БОЕ-э) I: 213
 - вегетативные, индукция мезодермы II: 56
 - вульвы у *C. elegans* II: 133
 - предшественники II: 22; III: 79
 - гипертрофия и гиперплазия III: 202
 - глубокие краевой зоны I: 126–127
 - гранулы III: 286–287, 290
 - деление, *см. также* Дробление; Мейоз; Митоз
 - скорость (гиперплазия) III: 202, 203
 - у личинки *Drosophila* III: 177
 - уровни контроля III: 204
 - детерминированные II: 52
 - дистальная верхушечная III: 121
 - дифференциальное сродство III: 6–8
 - дифференцированные типы II: 6
 - колбовидные I: 118
 - у птиц I: 135
 - формирование архентерона I: 125
 - крови
 - дифференцировка III: 209
 - формирование и развитие III: 212–219
 - *Лейдижа* II: 6; III: 212
 - морфогенез III: 5
 - NIN3T3 III: 217, 219
 - нервного гребня
 - врожденные дефекты I: 180
 - дифференцировка I: 161, 169
 - контактное ингибирование движения III: 13
 - миграция I: 169–174
 - поверхностные краевой зоны I: 126–127
 - поджелудочной железы II: 218
 - полипотентность I: 174–175
 - *Сертоли* III: 42–43, 234, 236
 - выделение антимюллеровского гормона III: 240, 242–243
 - и сперматогенез III: 269
 - соматические I: 12, II: 112–113
 - у вольвоксовых I: 24–25
 - старение III: 226–227
 - теки III: 234, 285
 - трохобласта II: 16
- В-клетки (В-лимфоциты) II: 93–95. *См. также* Иммуноглобулины, Лимфоциты
 - дифференцировка III: 70–75
 - и лимфоцитарные опухоли III: 221
 - моноклональные антитела III: 21–22
 - старение III: 225
 - обнаружение дифференцировочного антигена III: 22–25
 - передача компетенции путем переноса рецепторов III: 319
 - процессинг РНК II: 186–187
 - созревание III: 152–154
- Клеточная мембрана, изменения в процессе развития II: 21–23
- локализация белков II: 224–225
- строение III: 15–21
- Клеточные контакты III: 20–21, 43–45. *См. также* Щелевые контакты; Плотные контакты
- онкогены *см.* Протоонкогены
- Клеточный цикл и влияние факторов роста III: 206–207
 - дробление I: 101–102
 - старение III: 226–227
- Клоакальная мембрана I: 219
- Клональной селекции теория II: 95
- Клонирование II: 76–79
- векторы II: 81
- генов II: 81–91, 142–146
- растений II: 78
- с вычитанием II: 104–105
- у амфибий II: 71–77
- млекопитающих II: 78
- ядер II: 73
- Коготь, индукция III: 57
- Кодон АТГ II: 137
- терминатор трансляции II: 138, 139
- КОЕ *см.* Колониеобразующая единица
- Кожа, гистотипическая агрегация III: 9
- региональная специфичность индукции III: 57
- Кожное сало I: 177
- Коллаген II: 6, 220; III: 35
 - во внеклеточном матриксе III: 35
 - гидроксиглирование, синтез II: 229
 - и индукция пера III: 66–67
 - почки III: 61–62
 - хрусталика III: 56
 - инициация ветвления III: 68–70
 - контактное ориентирование III: 13
 - ламинин III: 39
 - миграция нейронов III: 112
 - посттрансляционная регуляция синтеза II: 228–229
 - типы II: 6; III: 35
 - формирование щели III: 68–70
- Колониеобразующая единица (КОЕ) I: 212–215
- Колонистимулирующий фактор (КСФ) I: 214–215
 - ген для него II: 88–90
 - и регуляция по типу обратной связи III: 209
 - онкогены III: 215
- Кольцевые каналы III: 281
- Кольцо *Бальбиани* II: 101, 102
- Компактизация I: 89–91
 - хроматина II: 160, 161
- Компартментализация у дрозофилы III: 139–142
- Компенсация дозы гена II: 111
- Компетенция II: 62
 - и вторичная индукция II: 61–63; III: 52
- Комплементарная ДНК (κДНК) II: 81
 - гибридизация *in situ* II: 92
 - к вирусным онкогенам III: 210
 - метод получения II: 82
- Конвергентное растяжение I: 127
- Конверсионная гипотеза III: 246
- Конечности, дупликация (увеличение

- числа) пальцев III: 95
 - морфогенез путем специфической гибели клеток III: 125
 - правила формирования III: 305
 Конечный мозг (telencephalon) I: 153–154
 Контактная плацента I: 140
 Контактное ингибирование движения III: 13
 - ориентирование III: 12–13
 - и рост аксонов III: 110
 Константная область иммуноглобулина II: 95–99
 - и процессинг РНК II: 186–188
 Конститутивная единица транскрипции (KET) II: 184
 Конститутивный гетерохроматин *см.* Гетерохроматин
 Контроль на посттрансляционном уровне I: 19; II: 219–230
 Концепция порога III: 165–166
 Конъюгация I: 20–22
 Координированная регуляция экспрессии генов II: 150–151
 Кориум (собственно кожа, дерма) I: 173, 176
 - скорость митозов в нем III: 202–203
 Коррелированное развитие III: 310
 Кортикальная реакция I: 55–57
 Кортикальные половые тяжи III: 236
 Кортикальный слой яйца I: 39, 40, 41, 103–104
 - и поворот (перемещение) цитоплазмы I: 67–69, 120–122
 Костный матрикс I: 193–194; II: 6
 Кость, развитие I: 194–199
 Краевая зона I: 118
 - инволюирующая I: 126–129
 - и формирование архентерона I: 118, 125–127
 Краевой слой I: 157
 Красные кровяные клетки *см.* Эритроциты
 Креатинфосфат II: 203
 Креатинфосфокиназа I: 192–123; II: 203
 Кривые $C_0 t$ II: 179–183
 Кристаллины I: 167, 168; II: 6
 Кровеносные сосуды и миграция половых клеток III: 261–262
 - индуцированные опухолью I: 209–211
 - формирование I: 202–207
 Кроветворные стволовые клетки I: 212–213
 Кровяные островки I: 205–216
 Кроссинговер III: 265
 Крыловые диски III: 141–142
 Ксантофоры I: 170
 Куколка насекомых III: 176
 - кутикула III: 175
 - синтез «белка клея» II: 122
 Кумулюс III: 286, 289
 Курица, активация вителлогенинового гена II: 164
 - внезародышевые оболочки I: 200
 - индукция конечности III: 80–84
 - пера I: 66
 - производных покровов тела III: 57
 - кальцификация I: 197–198
 - кровеносная система зародыша, ангиогенный фактор I: 205
 - мезодерма и развитие сердца I: 202
 - миграция клеток нервного гребня I: 179, 172, 174
 - половых клеток III: 261–262
 - миобласты I: 191, 192
 - морфогенез ноги III: 125
 - мутация *Ametopodia* III: 59
 - мышечная дистрофия I: 199
 - нейруляция I: 149, 155, 158
 - пересадка гензеновского узелка II: 53
 - поведение III: 122
 - развитие мезодермы I: 198, 199
 - конечности III: 99–102
 - ретиноэкспрессирующие синапсы III: 119–121
 - синтез овальбумина II: 123–125
 - химеры курица-перепел I: 217
 - хрусталиковая плакода I: 166, 167
 Кэп-группа, регуляция трансляции II: 213–214
 Кэп-последовательность II: 137, 140
 Кэп-связывающий белок II: 199, 200
 Лактатдегидрогеназа (ЛДГ), активация в спермии II: 219
 - и сперматогенез III: 272
 - изоферменты II: 222–224
 Ламеллоподии I: 38; III: 13
 - и миграция клеток III: 40
 Ламинины III: 33, 39
 - и миграция клеток нервного гребня I: 173; III: 33
 - развитие почки III: 61
 - строение и области связывания III: 39
 Лануго I: 177
 «Лариаты» II: 118
 - и амплификация генов II: 116–118
 - сплайсинг интронов II: 191–194
 Ларинготрахеальная борозда I: 221
 Латеральное ингибирование III: 79
 ЛГ *см.* Лютеинизирующий гормон
 ЛДГ *см.* Лактатдегидрогеназа
 Легочная артерия I: 204, 207
 Лептотена III: 263, 264
 Лидерная последовательность II: 137
 Лизины I: 48–49
 Лизосомы, адресование белков в них II: 224–225
 Лимб I: 209
 Лимфоидные органы III: 122
 Лимфокины III: 73
 Лимфома Бёркитта III: 221–222
 Лимфоциты
 - гены II: 95–99
 - детерминация и структура II: 93–95
 - индукция III: 70–76
 - кроветворная стволовая клетка I: 212–215
 - миграция III: 122
 - созревание II: 153
 - хемотаксис предшественников III: 10
 Линейного роста закон Брукса III: 194
 Липовителлин III: 276, 277
 γ -Липотропин, посттрансляционная модификация II: 219, 221
 Липопротейины низкой плотности (ЛНП) II: 154
 Личинка, *см. также* Метаморфоз; Плутеус
 - гетерохрония III: 170–172
 - субстрат и развитие III: 182
 Лордоз III: 245
 Лучистый венец (*corona radiata*) I: 40
 Лютеальная фаза менструального цикла III: 286, 287–288
 Лютеинизирующий гормон (ЛГ)
 - и менструальный цикл III: 284–288
 - половое созревание III: 187–189
 - регуляция фолликулярных клеток III: 288–289
 Лютеотропин III: 288
 Лягушки, *см. также* Амфибии;
 Шпорцевая лягушка
 - дробление I: 81
 - гастрюляция I: 118–119
 - зародышевая плазма II: 30
 - клонирование ядер III: 72
 - метаморфоз I: 13; III: 162
 - миграция половых клеток III: 259–260
 - мозаичное развитие II: 40–41
 - морфогенетические детерминанты II: 14–15
 - нейруляция I: 148
 - прямое развитие III: 172, 173
 - развитие мезодермы I: 199
 - регенерация конечности III: 105
 - скорость делений при дроблении I: 74–75
 - формирование бластоцеля I: 89, 82–83
 Магнум II: 123–124
 Макромеры II: 43–49
 - у моллюсков I: 83–84
 - морских ежей I: 77, 78
 Макронуклеус I: 20
 Макрофаг III: 71
 Максимальная продолжительность жизни III: 224
 Мальпигиев (ростковый) слой эпидермиса I: 175–176
 Малые ядерные рибонуклеопротеидные частицы (мРНКП) II: 191–194
 Маркеры клеточной поверхности III: 121–122
 Маскированные мРНК II: 211–214
 Материнская регуляция II: 206–216.
См. также Цитоплазматическая локализация; Цитоплазма ооцита
 «Маточное молочко» III: 182
 Мезенхима, *см. также* Эпителио-мезенхимные взаимодействия
 - выселение у морского ежа I: 111–115
 - головы I: 186–187
 - и гастрюляция у птиц I: 133
 - гиалуроновая кислота III: 135–136
 - индуктивные взаимодействия III: 53
 - молекулы клеточной адгезии III: 28–31

- формирование конечности III: 82
- индукция хрусталика III: 55–56
- контактное ориентирование III: 12–13
- метанефрогенная III: 60–61, **65**
- первичная I: 111, **112**
- Мезенхимный фактор III: 68
- Мезодерма I: 12
- боковых пластинок I: 186, 199
- образование почки конечности III: 80–81
- дорсальная (параксиальная) I: 186–199
- индукция конечности у куриного зародыша III: 80–81
- кожных производных III: 57–58
- у моллюсков II: 17
- энтодермой II: 56–57
- несегментированная I: 186
- области I: 186–188
- производные I: 187
- промежуточная I: 186, **187**, 199
- соматическая (париеальная) I: **187**, 199, **201**
- спланхическая (висцеральная) I: **187**, 199, **203**
- формирование сердца I: 201–202
- у амфибий I: 126–129
- позвоночных I: 147
- Мезодермализующий фактор II: 60
- Мезолещитальное яйцо I: 75
- Мезомеры I: 78
- Мезэнтобласты II: 18
- Мейоз III: 263–266, 273–275
- блок (блокирование) III: 278, 288
- в процессе оогенеза III: 273–274
- сперматогенеза III: 270, 271
- Меланин II: 6
- Меланома, рост и метастазирование I: 211
- Меланосомы II: 70
- Меланоциты I: 169, **170** II: **6**
- Меланотин III: 187
- Мембраны, молекулы клеточной поверхности III: 74
- образование новых мембран при дроблении I: 106
- потенциал покоя и полиспермия I: 54
- строение III: 15–20
- жидкостно-мозаичная модель III: 18–19
- Мембранный потенциал покоя I: 54
- Менструальный цикл III: 187, 285–288
- Мерогонии II: 45
- Мероистический оогенез III: 281–284
- Метаморфоз III: 161
- гемиметаболический и гомометаболический III: 175
- гормональная регуляция III: 161–172
- детерминация (трансдетерминация) II: 69
- преждевременный II: **181**, 182–183
- у амфибий III: 162–171
- морских ежей III: 161, 172–175
- насекомых III: 175–181
- Метаморфозный климат III: 164, **165**
- Метаплазия II: 70–71
- Метастазирование I: 210
- Метафаза мейоза I: **23**; III: **264**
- митоза I: **15**
- Метилирование глобиновых генов II: 155–156
- ДНК II: 155–156
- сайты II: 158
- Механика развития (Entwicklungsmechanik) II: 71; III: 60, 321
- Меченых путей гипотеза III: 110–111
- Миграция клеток и морфогенез III: 5
- развитие зачатка конечности III: 80–84
- механизмы III: 9–13
- нервного гребня I: 169–174
- половых III: 259–262
- роль фибронектина I: 114, 172–173, 188–190
- Миелинизация I: 163
- Миелиновая оболочка I: 163
- Микроворсинки I: 51
- Микроинъекции II: 88
- Микромеры и модель двойного градиента II: 45–49
- у моллюсков I: 83
- морских ежей I: 77, 78, 114
- Микронуклеус I: 20–21, 25
- Микроорганизмы как тератогены I: 179. *См. также* Бактерии
- Микропиле I: **58**
- Микротрубочки I: 38; III: 17–20
- и дробление у насекомых I: 99, **100**
- жгутик спермия I: 38–39
- механизм деления I: 69, 102–104
- ориентация и миграция клеток I: 114–115, **116**, III: 40
- роль в формировании нервной трубки I: 151–153
- рост II: 226–227
- сборка I: **20**
- строение I: 38–39
- Микрофиламенты
- и движение Р-гранул у *C. elegans* II: 22
- дробление у насекомых I: 99–101, 103
- миграция клеток III: **40**
- роль в формировании нервной трубки I: 151–153
- связь с клеточной мембраной III: 17–20
- Миксамеры I: 28–29
- Миобласты I: 190–194
- изоформы I: 199
- протеогликановая оболочка III: **37**
- слияние I: 190–192
- Миогенез I: 190–194
- Миозин II: 6
- дифференцировка и процессинг РНК для него II: 189
- и формирование миоцитов I: 193
- нервной трубки I: 151
- изоформы I: 199
- Миотом I: 190
- Миоциты II: 6
- Митоз, *см. также* Деление клеток; Дробление; Кариокинез
- скорость при дроблении I: 74–75
- стадии I: **15**
- у прокариотов и эукариотов I: 14
- Митохондрии, адресование белков в них II: 225–226
- репликация в процессе оогенеза III: 275, 277
- МКА *см.* Молекулы клеточной адгезии
- Млекопитающие, *см. также* Человечек; Мышь
- активация генома II: 216, 217
- гастрология I: 136–140
- дробление I: 88–97
- инактивация X-хромосомы II: 111–114
- миграция половых клеток III: 260–261
- пересадка ядер в энуклеированные клетки II: 77–78
- развитие поведения III: 122–124
- соединение гамет I: 46–50
- эволюция головного мозга III: 159
- элиминация синапсов III: 125
- Многочеточность, эволюция I: 22–31
- Множественность путеводных вех нейронов III: 115–116
- Мобильные элементы *см.* Транспозоны
- Модель градиентная позиционной информации (модель французского флага) III: 89–90
- катящегося кольца II: 117–118
- полярных координат III: 95–98
- реакционно-диффузионная III: 106–109
- ретино-тентальной специфичности III: 120
- Мозаичное развитие II: 8, 63
- гипотеза Ру II: 40–41
- у моллюсков II: 14
- оболочников II: **10**
- Мозг, *см. также* Нейроны
- белое вещество I: 157
- зрительная система млекопитающих III: 122–134
- контрлатеральная и ипсилатеральная стороны III: 123
- области связывания эстрогена III: **245**
- позвоночных III: 109–110
- половой диморфизм у птиц III: **244**
- серое вещество I: 157
- формирование отделов I: 153–155
- эволюция коры I: 159
- Мозжечок (cerebellum) I: 154
- дифференцировка I: 157
- зернистый (гранулярный) слой I: 157
- Молекулы адгезии к субстрату III: 20
- клеточной адгезии (МКА) III: 20, 24–25
- идентификация III: 25–27
- лимфоцитарные (L-МКА) III: 27
- нейральные (N-CAM, N-МКА) III: 25–26, 28–31
- и индукция пера III: 67
- сахарид-опосредование III: 27, 32–34
- распределение III: 30–32
- клеточной поверхности III: 20–23

- Моллюски II: 213. См. также Улитки
- выводковая камера (marsupium) I: 86–87
 - локализация цитоплазматических компонентов II: 14–18
 - метаморфоз III: 182
 - спиральное дробление I: 83–87
 - характер роста раковины III: 194–197
- Молочная железа III: 183–184
- влияние гормонов на развитие III: 184–185
 - (молочная) почка III: 183
- Молочный гребень III: 183
- Моноклональные антитела III: 21–25
- к клеткам нейтральной сетчатки III: 120
 - установление синаптической специфичности III: 121
- Морская звезда, бластула I: 78–79, 80
- инвагинация I: 117
- Морской еж, акросомная реакция спермиев I: 43–45
- активация генов II: 216
 - яйца I: 64–67
 - быстрый блок полиспермии I: 54
 - видоспецифическое узнавание спермиев и яиц I: 45–46
 - гастрюляция I: 111–118
 - гистотипическая агрегация бластомеров III: 9
 - плутеус и ингибиторы синтеза белка II: 208
 - материнская регуляция II: 206–207
 - метаморфоз III: 161, 172–175
 - оплодотворение I: 36, 63, 64
 - опыты *Дриана* с изоляцией бластомеров II: 41
 - полиспермия I: 54
 - последовательная трансляция мРНК II: 214–215
 - привлечение спермиев I: 42–43, 45
 - прямое развитие III: 172–175
 - слияние спермия и яйца I: 51–53
 - ядер I: 59
 - сложность мРНК II: 181
 - субстрат и метаморфоз III: 181
 - тип дробления I: 77–81; III: 77
 - яйцо I: 39–42
 - яРНК III: 180–183
- Морула I: 82, 90, 91, 94
- Морфалаксия III: 91
- Морфоген(ы) III: 88
- градиент III: 88–93
 - секреция зоной поляризующей активности (ЗПА) III: 102–103
- Морфогенез I: 12; III: 5
- и контактные модификации III: 43–45
 - при развитии ацетабулярии I: 16–18
 - путем специфической гибели клеток III: 124–125
- Морфогенетические детерминанты (факторы) II: 8, 12. См. также Морфогены
- внутриклеточная локализация II: 14–16
 - в цитоплазме яйцеклетки I: 40, 67
 - сегрегация по бластомерам II: 17–19
 - у оболочников II: 8–14
 - правила строения III: 304
- мРНК I: 16
- без кэп-группы II: 213–214
 - библиотеки II: 85
 - вегетативная (Br1) II: 15–16
 - и старение III: 227
 - вителлогенез III: 277
 - классы II: 183–184
 - ооцита I: 40, 65; II: 15–16, 207–211
 - регуляция развития II: 107
 - сложность II: 180, 181, 183
 - спецификация полярности II: 31–33
 - специфическая для эктодермы II: 106
 - специфичные для мышечных белков I: 194
 - трансляция II: 199–202
 - транспорт из ядра II: 194–196
 - у ацетабулярии I: 17–18
 - прокариотов I: 16
- Муррея закон III: 193
- Мутагенез, специфические сайты II: 90–91
- Мутагены и беременность I: 178–181
- Мутации гомеозисных генов III: 147–151
- детерминации пола у дрозофилы III: 189–190; III: 247–248
 - и инициация трансляции II: 467
 - онкогенез III: 219–220
 - как маркеры первичных половых клеток II: 27–29
 - следствие встраивания в ген транспозонов II: 100
 - нарушающие образование 3'-конца РНК II: 194–195
 - полярность у дрозофилы II: 32–35
 - сегментацию у дрозофилы III: 142–149
 - неврологические у мышей I: 157–158
 - обусловленные материнским эффектом II: 209
 - отцовским эффектом II: 110
 - при развитии конечности щипленка III: 83
 - специфические, *agametic* II: 29
 - Ametopodia* III: 59
 - Anterobithorax (abx)* III: 150
 - bicoid* II: 33
 - bicaudal (bic)* II: 33–35
 - bride* III: 76, 78
 - bride of sevenless (boss)* III: 78
 - Caudal (cad)* II: 33–35
 - Danforth's short tail* III: 65
 - dappled* II: 112
 - Deformed (Dfd)* III: 148
 - ebony (e)* II: 27
 - engrailed* III: 143
 - eyeless* I: 164
 - eudiplopodia* III: 83
 - hunchback* III: 143, 144, 145, 151
 - knirps* III: 143, 145
 - Krüppel* III: 143, 144, 145
 - lin-12* II: 130; III: 78–79
 - multiple wing hair (mwh)* II: 27; III: 140
 - Notch* II: 130–132
 - oskar* II: 33
 - polydactylous* III: 83
 - posterobithorax (Pbx)* III: 150, 151
 - Q* I: 209
 - rough* III: 78
 - scaleless* III: 66–67
 - sevenless* III: 76, 78
 - singed (sn³)* II: 28
 - snake* II: 32
 - staggerer* I: 157–158
 - Toll* II: 32
 - weaver* I: 158
 - white (w)* II: 28
 - white-apricot* II: 100
 - yellow (y)* II: 28
- Мышечная дистрофия I: 199
- Мышечные трубочки I: 190–193; II: 189
- Мышцы, см. также Миоциты
- в регенерирующих конечностях III: 94
 - гипертрофия III: 203
 - дифференцировка I: 190–194
 - элиминация синапсов III: 124–125
- Мышь(и), гомеобокс *Hox* III: 155, 156
- детерминация пола III: 239–241
 - дробление I: 90
 - имплантация III: 91
 - инактивация X-хромосомы II: 111–112, 114
 - компактизация I: 90
 - миграция нейронов III: 113–114
 - мутация *eyeless* III: 164
 - White* I: 172
 - пересадки ядер II: 77–78
 - половые клетки III: 260
 - процессинг РНК и развитие II: 183
 - развитие молочных желез III: 183–186
 - спермиев III: 271
 - реконструкция кожи из суспензии клеток кожи III: 8
 - слияние клеток II: 93
 - сплайсинг интронов II: 141
 - средняя вероятностная продолжительность жизни III: 223
 - трансгенные II: 88
 - формирование клеток крови I: 215
 - эмбриональные тератокарциномы I: 221–224
 - эпителий слюнных желез III: 68–70
- Мюллеров проток, гормоны и половой фенотип III: 242–243
- дифференцировка гонад III: 236, 237
- Надмолекулярная сборка белков II: 226–228
- Надпочечники, мозговое вещество I: 169
- Наружные эндотелиальные вены (НЭВ) III: 122
- Насекомые, см. также Дрозофила
- детерминация половых клеток II: 25–29
 - меристический оогенез III: 283–284
 - метаморфоз III: 175–183

- 284
 — общественные III: 198–199
 — поверхностное дробление I: 97–101
 — типы нейронов III: 110–114
 — эволюция на основе гомеостатических генов III: 157
 Натрия ионы, активация яйца I: 63–64, 66–67
 — блок полиспермии I: 54
 — освобождение от прозрачной оболочки I: 94
 Неинволюирующая краевая зона I: 127, 128
 Независимое (автономное) развитие II: 51–52
 Нейтральный эпителий I: 155
 Нейробласты I: 155–157
 — дифференцировка III: 110
 Нейромедиаторы I: 174–175
 Нейрон(ы) (нервные клетки) II: 6. См. также Аксон, Дендриты, Мозг, Сетчатка, Фоторецепторные клетки
 — агрегация III: 27, 28
 — адренергические и холинергические I: 174
 — гальванотаксис III: 12
 — дифференцировка I: 157, 160
 — зернистого слоя мозжечка I: 157–158
 — изменения в процессе метаморфоза амфибий III: 167–168
 — и регенерация конечности у амфибий III: 94
 — насекомых III: 179
 — межклеточные взаимодействия III: 110–113
 — Пуркиньи I: 157
 — специфическая гибель клеток в процессе развития III: 124–125
 — тело (сома) I: 60
 — число в мозгу человека III: 109
 Нейронной специфичности гипотеза III: 118
 Нейропептид CGRP I: 188
 Нейропор, передний и задний I: 150–151
 Нейрула I: 147; III: 173, 259
 Нейруляция I: 147, 182
 Нематода (*Caenorhabditis elegans*), карта клеточных линий II: 21
 — детерминация II: 20–23
 — клеток вульвы II: 132–134
 — пола III: 251–252
 — половых клеток II: 24–25
 — локус *lin-12* II: 130–132
 — трансдетерминация III: 266–269
 Неотения III: 170, 171
 Нервная пластинка I: 147–149
 Нервная трубка I: 147–153
 — дефекты смыкания I: 150–151
 — дифференцировка клеток I: 153–158
 — индукция хордомезодермой II: 61; III: 67–68
 — индукция гензеновским узелком II: 53
 — формирование I: 147–153
 Нервный валик I: 148
 — гребень I: 147, 148
 — миграция клеток из него, влияние ретиноловой кислоты I: 180
 — основные производные I: 169–175
 — желобок I: 148
 Нетранскрибируемый спейсер II: 116, 117
 Нефротом I: 190
 Ник-трансляция см. Трансляция разрыва
 Нимфа III: 175
 Новая кора (неопаллиум, неокортекс) I: 154, 158–159
 Нозери-блот II: 89–90
 Нуклеиновые кислоты, гибридизация II: 80–81
 — комплексы с белками II: 228
 Нуклеосомы II: 159–162
 — влияние Z-ДНК на их образование II: 170–171
 — и транскрипция ДНК II: 164–166
 Область (поле) проспективной конечности III: 98–99
 — промотора II: 137–144
 Оболочка оплодотворения I: 55, 64
 Оболочки, дробление I: 87–88
 — перемещение цитоплазмы I: 67, 68
 — цитоплазматическая спецификация II: 8–14
 Обонятельная доля мозга (rhinencephalon) I: 154, 159
 «Обратная генетика» III: 24
 — транскриптаза II: 81
 Овальбумин II: 143; III: 6, 191
 — синтез II: 123–125
 — стабилизация мРНК для него гормонами II: 218
 Овальное отверстие I: 209
 Овариальные фолликулы см. Фолликулярные клетки
 Овуляция III: 285–288
 Одноклеточные эукариоты I: 16–22
 Одонтобласты I: 170
 Окостенение I: 194–196
 — интрамембранное I: 194
 — эндохондральное I: 194–195
 Окраска кошек и инактивация X-хромосомы II: 114
 Октабкс II: 152
 Олигодендрциты I: 161, 163, 170
 Омматидии III: 76
 Онкогенез III: 209
 Онкогены вирусные (v-) и клеточные (c-) III: 209–219
 — и клеточный рост III: 209–218
 — варианты переносчиков сигнала III: 216
 — рецепторов фактора роста III: 213
 — фактора роста III: 213
 — ядерных факторов III: 217
 — список III: 211–212
 — *c-fos* III: 218
 — *c-myc* III: 218, 220–222
 — *v-alb* III: 213
 — *v-erb-B* III: 211, 213–215, 216
 — *v-fms* III: 211, 215
 — *v-fos* III: 218
 — *v-ras* III: 212, 216–217
 — *v-sis* III: 211
 — *v-src* III: 216
 Оогенез
 — меростический (у насекомых) III: 281–284
 — у амфибий III: 275–281
 — человека III: 284–288
 Ооцит(ы) I: 40, 41. См. также Оогенез
 — компоненты III: 275
 — первичные и вторичные (первого и второго порядка) III: 273–274; I: 41
 Оперон *lac* II: 114, 177
 Оплодотворение I: 12, 35
 — моноспермное I: 53
 — у лягушки I: 13
 — млекопитающих I: 59–61
 — морского ежа I: 59
 Опухолевый фактор ангиогенеза I: 209
 Опухоль(и), см. также Онкогенез
 — Вилма III: 63
 — индукция ангиогенеза I: 209–211
 — образованная В-лимфоцитами III: 73–74, 221–222
 — факторы, подавляющие рост III: 208–209
 Организующий центр III: 133
 — задний III: 133, 137–138
 — передний III: 133–137
 Органогенез I: 12, 147, III: 6
 Оси, ретино-текстальная проекция III: 117. См. также Полярность
 Остеобласт I: 194, 197; II: 6
 Остеогенез I: 194–198
 Остеокласт I: 195, 198–199
 Остеоцит I: 194
 Островки Лангерганса III: 63
 Отпадающая (децидуальная) плацента см. Плацента
 Палеопаллиум (старая кора, гиппокамп) I: 154
 Пангенеза гипотеза II: 40
 Параксильная мезодерма I: 186, 188
 Паранеопластический синдром III: 25
 Парасегменты у дрозофилы III: 143–146
 Парашитовидные железы I: 219
 Паренхиматозные органы, формирование III: 60–64
 — ветвление III: 68–70
 — индукция III: 60–64
 Париетальная мезодерма I: 187, 199, 201
 «Партеногенетические мерогонии» II: 207
 Партеногенез I: 62
 Пахитена III: 264, 265
 Пахитенная шапочка II: 117
 Пептидные гормоны III: 170
 Первичная бороздка I: 131, 132, 134, 150
 — кишка I: 218, 134
 — мезенхима I: 111, 112
 — полоска I: 131–133, 150
 — регрессия I: 133
 — у млекопитающих I: 139
 — птиц I: 150
 — эмбриональная индукция, см. Индукция
 — ямка I: 131, 150

- Первичноротые I: 32–33
Первичные половые клетки (ППК)
I: 12; II: 25–26, 30–31; III: 259–262, 269
— биопотенциальность III: 266
— миграция III: 259–262
— процесс формирования спермиев I: 37
— признаки III: 187. См. также Гонады, Семенник(и), Яичник(и)
— развитие III: 234–236
— тяжи III: 236
— фолликулы III: 285
Первичный гребень I: 150
— задний мозг (rhombencephalon) I: 153, 154; III: 245
— передний мозг (prosencephalon) I: 153, 154
— проток (млечный тяж) III: 184–185
Передача компетенции и эволюция III: 316–317
— внутреннее и средовые индукторы III: 318
Передний промоторный ЦААТ-бокс II: 142–144
Переключение классов см. Иммуноглобулины
Перемещение экзона II: 152
Переход к средней бластуле (ПСБ): I: 101; II: 145
Перешеек II: 124
Перивителлиновое пространство I: 60, 61
Перидерма I: 175
Перикардальная полость I: 202
Периост (надкостница) I: 194, 195
Перо, индукция III: 66–67
R-петля II: 140
Печеночный дивертикул I: 219–220
Печень, роль в гемопоэзе I: 216, 217
— оогенезе амфибий III: 277
Пигмеи III: 206
Пигментация зерен кукурузы, роль транспозонов II: 100
— мышей, гетерозиготных по гену *dappled* II: 112
Пигментная сетчатка I: 164
Пигментные клетки (меланоциты) I: 169–172
— сетчатки III: 163
Пили половые (фимбрии) I: 20, 21
Пионерские нервные волокна III: 109
Питающие клетки III: 281, 282
Пиявки, нейроны III: 121
Плазматическая мембрана яйца I: 39, 40–42. См. также Мембрана
Плазматические клетки III: 94, 99, 107
— индукция III: 70–73
Плазмиды рекомбинантная II: 83, 84
— pBR322 II: 83, 84
Планта I: 137, 140–142
— и кровоснабжение зародыша I: 205–209
— индукция онкогенных белков III: 218
— как приспособление к внутриутробному развитию I: 76
— контактная I: 140
— отпадающая (децидуальная) I: 137, 140–142
Плащевой слой I: 155–157
Плоские черви, стратегия роста III: 193
Плоскости делений дробления I: 77
— у амфибий II: 49, 50
— иглокожих I: 89; II: 41
— млекопитающих I: 89
Плотные контакты III: 43
— и компактизация I: 90
Плутеус I: 11, 112; II: 208; III: 172–175
— эксперименты Дриппа II: 41
— Герстадиуса III: 43–45
Поведение, развитие III: 122–124
— связанное с полом III: 245–246
Поверхностное дробление см. Дробление
Поворот (смещение) сетчатки у *Xenopus* III: 118–119
— цитоплазмы зиготы у амфибий I: 121–123
Поджелудочная железа I: 219, 220; II: 146–150
— морфогенез III: 63–64
Подзародышевая полость I: 97, 98
Подключичная артерия I: 204, 207
Позвоночные, амниоты I: 33, 200
— пространственная организация нейронов III: 109
— филогенез и онтогенез I: 145–147
— эволюция головного мозга I: 159
Позиционная информация, градиентная модель III: 88–91
— образование «пятен-глаз» на крыльях бабочек III: 90
— модель полярных координат III: 95–98
— память и регенерация конечности III: 14–15
Пол I: 20
Поле конечности III: 99
Поли(А)-конец (хвост) II: 139
— и активация мРНК ооцита III: 281
— 3'-конец РНК II: 194–195
— механизм старения III: 227
— рекрутирование мРНК II: 204
— трансляция мРНК II: 201–202, 213
Поликлоны III: 140
Полипотентные кроветворные клетки I: 212
Полипотентность I: 174
— клеток нервного гребня I: 174–175
Полипозитин I: 215
Полисахариды и миграция клеток I: 135–136
Полисомы II: 103, 200, 201
— и рекрутирование мРНК II: 212–213
Полиспермия I: 53
— быстрый блок I: 54
— медленный блок I: 54–55
Политенные хромосомы II: 65–67
— гибридизация *in situ* II: 92
— Z-ДНК II: 171
— последовательность пухов II: 100–101
— пухи экдистерон-чувствительные II: 100–101, 104, 121
Половая дифференцировка у млекопитающих III: 234–236
Половое созревание III: 187–189
— размножение I: 21. См. также
Оплодотворение
— происхождение I: 20
— у вольвокса I: 25–28
Половой валик III: 235
— и миграция половых клеток III: 260–261
— диморфизм мозга у птиц III: 244–245
Половые клетки I: 12. См. также Ооцит; Спермий; Яйцо
— и теория зародышевой плазмы II: 39–40
— локализация цитоплазматических детерминантов II: 24–30
— реактивация X-хромосомы II: 113
— у вольвоксов I: 27
— гормоны III: 187
— пили см. Пили
— тяжи III: 235, 236
Полосатое тело (corpus striatum) I: 159
Поляризация и компактизация I: 91–92
Полярная лопасть II: 17–19
— плазма II: 26–29
Полярность анимально-вегетативная III: 276, 277
— зародышей амфибий I: 120–122
— дорсовентральная II: 31
— и почкование у гидры III: 91–93
— цитоплазматические детерминанты II: 30–36
— модель полярных координат III: 95–98
— переднезадняя II: 33–34; III: 132–138
— развивающейся конечности III: 95–105
— регенерирующей конечности III: 93–95
— яиц *Drosophila* III: 284
Полярные гранулы II: 26–29
— клетки I: 99; II: 26–28; III: 313
— тельца I: 60, 61
— первое III: 274
Поперечные связи II: 73–76
Порфиросин III: 163
Последовательное сигнальное адресование белка II: 224
Потенции клеток, ограничение II: 71–79
Потовые железы I: 177
Почечные каналы III: 60–63
Почка, морфогенез III: 60–63
— конечности III: 80–83, 114, 172
Почкование у гидры III: 91
ППК см. Первичные половые клетки
Правило кратчайшей интеркаляции III: 96
— полного круга для дистальной трансформации III: 97
Превителлогенная фаза у амфибий см. Профаза
Предсердие I: 204
Предшественник инсулина II: 219–220
Прекопены III: 183
Преформации гипотеза II: 6–7
Привлечение спермиев I: 42–43
Прогенез III: 170, 171–172

- Прогерия III: 224
 Прогестерон I: 140
 — влияние на развитие молочных желез III: 185
 — и менструальный цикл III: 286, 287–288
 — оогенез III: 278, 279, 281
 Прогрессивное развитие корреляции III: 311–314
 Продолговатый мозг (*medulla oblongata*) I: 153–154
 Продольная борозда (*sulcus limitans*) I: 157
 Прозрачная (блестящая) оболочка (*zona pellucida*) I: 40; III: 32, 287
 — и прикрепление спермиев I: 49–50
 — освобождение бластоцисты I: 94–95
 Производные кожи (покровов) I: 176–177. *См. также* Перо; Волосы
 — индукция III: 56, 57–59
 Проинсулин II: 218, 219–220
 Прокариоты I: 12–13
 — РНК и ДНК I: 13–16
 Пролактин II: 217–218; III: 186
 — и метаморфоз амфибий III: 165
 Пролiferация клеток и формирование кости I: 194–198. *См. также* Гиперплазия
 Промежуточная мезодерма *см.* Мезодерма
 Промежуточный мозг (*diencephalon*) I: 153–154, 163
 Прометаморфоз III: 194, 195
 Промотор(ы) II: 119, 120, 141–144
 — генов иммуноглобулинов II: 151, 152
 — инсерция и онкогенез III: 220–221
 Пронуклеус(ы) I: 59–62, 67; II: 88
 Просома II: 218
 Проспективная потенция и проспективная (нормальная) судьба II: 42, 49–50
 Простагландины III: 287
 Пространственная предорганизация III: 108
 Протамины III: 272
 Протандрические виды III: 253
 Протеинкиназа C III: 216
 — и активация яйца I: 64, 66, 67
 — синтез гемоглобина III: 203–204
 Протеогликины в межклеточном матриксе III: 35–37
 Протеолитические ферменты и метаморфоз амфибий III: 165, 166
 Протисты, дифференцировка I: 18–19; III: 296–297
 — половое размножение I: 20–22
 Проторакактотропный гормон (ПТТГ) III: 179–181
 Протоонкогены III: 211–212, 213–218
 — механизмы трансформации III: 219–223
 — список III: 211–212
 — *c-mos* и выход из блока мейоза III: 279–280
 Проторакальная железа III: 179, 181
 Профаза мейоза I: 23
 — вителлогенная фаза у амфибий III: 275
 — подстадии III: 264
 — превителлогенная фаза у амфибий III: 275
 — митоза I: 15
 Прозитробласт I: 213
 Прямое развитие I: 76; III: 170, 172–175
 Псевдоплазмодий I: 28, 29
 Птицы, *см. также* Курица
 — гастрология I: 131–136
 — гибель клеток в зачатке ноги III: 125
 — дискондальное дробление I: 97
 — контроль пения III: 244
 — миграция половых клеток III: 261–263
 — репродуктивная система курицы III: 381
 — эволюция от рептилий III: 59
 ПТТГ *см.* Проторакактотропный гормон
 Пуазейля закон III: 193
 Пузырьки матрикса и остеогенез I: 197
 Пупочная артерия I: 205, 206, 208
 — вена I: 205, 206, 208
 Пупочный канатик I: 140
 «Пятна-глаза» III: 90
 pH и эффективность трансляции II: 213–214
 — роль в активации яйца I: 63, 64, 65
 Радиальная симметрия I: 32
 Радиальное дробление I: 32, 78–83
 Радиоактивный распад и онкогенез III: 220
 Радужка I: 169
 Размножение I: 12. *См. также* Бесполое размножение, Половое размножение
 — простым делением I: 20–21
 Раковина, логарифмическая спираль и рост III: 194–197
 Распознавание молекул клеточной поверхности II: 99–100
 Рассортировка клеток III: 6–7
 — термодинамическая модель III: 13–15
 Растения, клонирование II: 78
 — связь с жизненными циклами насекомых III: 183
 — синтез пигментов II: 100
 Реакции прозрачной оболочки (реакции зоны) I: 55
 Реакционно-диффузионная модель III: 107–109
 Регенерационная бластема III: 94
 Регенерация, влияние ретиноидов III: 105–106
 — Вольфовская II: 70
 — глаза II: 70–71
 — конечности III: 15, 93–94, 106–109
 — дифференциальная адгезия клеток III: 14–15
 — полярность III: 94–95
 — саламандры III: 94–95
 — правила пространственной организации III: 95–98
 — у гидры III: 91
 Регуляторные взаимодействия генов дрозофилы III: 151–153
 — гены, эволюция III: 151–153
 Регуляционное развитие II: 41
 — теория Дриша II: 41–43
 Регуляция I: 30–96. *См. также* Транскрипция; Трансляция
 — генов прокариот и эукариот I: 15–16
 — у слизевиков I: 30–31
 — по типу обратной связи продукции фолликулярных клеток III: 288
 — пролиферации клеток III: 208
 — синтеза гема II: 202
 Резакт I: 42–43
 Рекомбинантная ДНК II: 81
 Рекрутирование мРНК II: 213
 Рентгеновские лучи как тератоген I: 178
 Реорганизация генов и созревание лейкоцитов II: 93–99, 151–154
 Рептилии, зависимость от температуры детерминация пола III: 254
 — миграция половых клеток III: 261–262
 — эволюция головного мозга I: 159
 Реснички клеток бластулы I: 81
 — трохобласта II: 16
 Рестрикционные ферменты (эндонуклеазы) II: 81
 — сайты метилирования II: 158–159
 Ретикулоциты I: 213
 Ретикулярная пластинка II: 213; III: 34
 Ретинобластома III: 222
 Ретиноевая кислота (РК) и врожденные дефекты I: 179–180. *См. также* Витамин А
 — как морфоген III: 102–106
 Ретровирусные векторы II: 88
 Рецепторные белки III: 20
 Рецепторы клеточной поверхности, поперечные связи III: 73–75
 Реципрокная индукция *см.* Индукция
 Рибонуклеопротеиды (РНП) II: 211–215
 Рибосомная РНК *см.* рРНК
 Рибосомные субъединицы II: 199–201
 Рибосомы, сравнение со сплайсомами II: 193
 — ооцита I: 40; II: 115; III: 275
 Рилинг-фактор лютеинизирующего гормона (РФ-ЛГ) III: 187
 — гонадотропного гормона (РФ-ГТ) III: 187, 277
 — тиреотропного гормона (РФ-ТТГ) III: 164–165
 РНК, *см. также* мРНК; рРНК; яРНК
 — дифференциальный процессинг II: 186–190
 — 3'-конец II: 194–195
 — локализация в ооците II: 15–16
 — поли(А)-хвосты II: 194–195
 — полярных гранул ооцитов II: 29
 — предшествующих, не прошедших процессинг II: 185–186
 — прокариот и эукариот I: 14–16
 — синтез в пуфах II: 101–104
 РНК-блот II: 89

- РНК-полимераза, классификация II: 119
- первый транскрипционный фактор для нее II: 127–128
- РНП *см.* Рибонуклеопротенды
- Роговой слой I: 176
- Роговица I: 166
- дифференцировка хрусталика III: 55–56
- Родопсин III: 163
- Рост I: 12; III: 7. *См. также* Аллометрический рост, Изометрический рост
- и онкогены III: 213–218
- Ротовая пластинка I: 219
- Роторные культуры III: 8–9
- рРНК, гены для нее, амплификация II: 115–120
- и гибридизация нуклеиновых кислот II: 80–81
- регуляция транскрипции фактором TFIIIA III: 127–130
- РФ-ЛГ *см.* Рилизинг-фактор лютеинизирующего гормона
- Рыбы, гермафродитизм III: 252–253
- дисконидальное дробление I: 97
- образование нервной трубки I: 148
- Сайт-специфичный мутагенез II: 90–91
- Сайты, *см. также* Рестрикционные ферменты
- разветвления (в интроне) II: 190–191
- разрезания рестриктазой III: 81–83
- сплайсинга II: 190–191, 192, 193
- Сальные железы I: 177
- Самцы, сопряженная эволюция III: 253
- Y-хромосома III: 234
- Саркома III: 209
- Саузерн-блоттинг II: 88–89
- Светлое поле (area pellucida) I: 97, 131, 132
- и первичная полоска I: 131
- Сегментация у дрозофилы III: 133–134
- Сегментная пластинка I: 186
- Сегрегация цитоплазмы II: 5
- Секвенирование II: 85–87
- Селезенка, формирование клеток крови I: 212–213, 215–216
- Семенники, развитие III: 234–236
- Семяносящие каналы III: 236
- Сенсорная депривация и зрительная система III: 122–124
- нервная система и нервный гребень I: 170, 174–175
- Сердечная трубка I: 202
- Сердце I: 201–202
- Серийные пересадки ядер II: 73
- Серотонин III: 115
- Серый серп I: 67, 69
- и развитие амфибий I: 121, 123; II: 49–50
- Серповидноклеточная анемия II: 228
- Сетчатка, вторичная индукция II: 62
- дифференциальная специфичность и пространственная организация III: 112–113
- дифференцировка I: 163–166
- множественность путеводных вех III: 116
- молекулы клеточной поверхности III: 22
- нейральная I: 164–166
- пигментная I: 164
- рассортировка клеток III: 13–14
- Сеть семенника III: 236
- Сиаловая кислота III: 29
- Сигнальный рецепторный комплекс II: 224
- Симметрия и дивергентная эволюция I: 33
- Симпатические ганглии I: 169
- Синапсис III: 264
- механизм III: 266
- Синапсы, элиминация III: 124–125
- Синаптическая специфичность III: 116–121
- Синаптономальный комплекс III: 264
- Синдекан III: 35, 62
- Синдром Дауна I: 178
- Клайнфельтера I: 178
- Лепа-Найхана II: 112
- отсутствия чувствительности к андрогену III: 184, 242
- приобретенного иммунодефицита (СПИД) III: 72
- Роберта I: 178
- Хатчинсона-Джилфорда III: 224
- Синтез РНК в ооцитах амфибий III: 280–281
- ооцитах насекомых III: 281–283
- процессе метаморфоза амфибий III: 168–170
- и активация генома зародыша II: 216–217
- выворачивание III: 177–179
- Синус краевой I: 206
- Синхронные гермафродиты *см.* Гермафродитизм
- Синцитиальная бластодерма *см.* Бластодерма
- Синцитиальные тязи I: 111, 113
- Синцитиальный трофобласт I: 137, 138, 139, 140–142
- Синцитий I: 26
- морского ежа I: 116
- образование при развитии спермиев III: 271
- Система кровообращения и проблема роста организма III: 192–194
- плода I: 205–209
- формирование I: 200–209
- синтеза белков *in vitro* II: 203
- Сифилис, врожденные дефекты I: 179
- Скелетные иглы I: 111, 112, 113
- Складка(и) головная(ые) (цефалическая) III: 132
- поперечные, задняя и передняя III: 132
- Склеротом I: 173, 174, 190
- Скорлупа II: 123, 124
- Слизевик I: 28–31
- транскрипционная регуляция II: 202
- *Dictyostelium* I: 28–31
- *Physarum* II: 220–221
- Слияние клеток I: 93
- мембран спермия и ооцита I: 50–53
- миобластов I: 190–191
- ядер I: 56–61; II: 93
- Сложность мРНК II: 178–179, 181, 210. *См. также* Кривые C_{ot}
- Слюнные железы, ветвление III: 68–70
- Смена поколений I: 26–28
- Смешанная культура лимфоцитов I: 141, 142
- Соединение гамет I: 46–48
- млекопитающих I: 48–50
- морского ежа (узнавание) I: 45–46
- Соединительный стебелек I: 140
- Сократимая сеть III: 20
- Сократимое кольцо микрофиламентов III: 103–104
- Соматическая детерминация пола III: 252
- мезодерма I: 187, 199, 201
- Соматомедины III: 205–206
- Соматоплевро I: 200, 201, 203
- Соматотропин *см.* Гормон роста
- Сомиты I: 150, 151, 171, 172, 188–190
- и миграция клеток нервного гребня I: 173, 174
- Сомитомеры I: 188
- Соотношение площадь—объем III: 192–193
- Спектрин I: 151
- Спермат I: 42
- Сперматиды III: 269, 270
- Сперматогенез III: 269–273
- Сперматогонии III: 269–270
- Сперматозоиды I: 35
- Сперматоциты III: 269–270
- Спермий, дифференцировка (сперматогенез) III: 269–273
- исторические концепции I: 35–36
- капилитария I: 46–50
- строение I: 37–39
- Спермиогенез III: 270–271
- Спецификация и детерминация III: 90, 157–158
- оси конечности III: 98–102
- ретино-текстальной проекции III: 118–119
- реакционно-диффузионные процессы III: 106–109
- Специфичность гибели клеток III: 165–167. *См. также* Дифференциальная специфичность
- Спинной мозг III: 116, 117
- Спиральное дробление I: 32–33, 83–87
- Сплайсинг РНК и детерминация пола II: 189–190
- мРНК II: 191–194
- процессинг белка II: 188–189
- иммуноглобулинов II: 186–188
- сплайсинговые сайты II: 190, 191
- Сплайсосомы II: 193
- Спланхическая (висцеральная) мезодерма *см.* Мезодерма
- Спланхopleвra I: 200, 201, 203
- Спонгиобласты I: 161
- Срединное возвышение III: 188
- Средний мозг (mesencephalon) I: 153–154, III: 245

- Стабильность генов II: 92–93
 Старение III: 223–227
 – теория соматических мутаций III: 227
 – у волюкса I: 26–27
 Стволовая(ые) клетка(и) I: 212
 – коммитированная I: 212, 213
 – кроветворная I: 212–215
 – первичные половые II: 24
 Стереотропизм III: 110
 Стерробластула I: 83
 Стомодей I: 218
 Стоп-кодон II: 189, 190
 Стрипин I: 94–95
 Строение клетки I: 12–16
 Строма III: 56
 Студенистая оболочка яйца I: 39, 40
 Сульфгидрильные группы белка и дробление III: 78, 80
 Суперспирализация II: 170
 Сурфактант I: 236
 Сывороточный альбумин II: 6
- T₃** см. Триодтиронин
T₄ см. Тироксин
 Т-клетки (Т-лимфоциты) I: 141–142; II: 6, 99
 – индукция В-клеток III: 70–73
 – миграция III: 122
 – старение III: 224–225
 – супрессоры III: 72
 – хелпер-индукторные III: 72
 Таламус III: 154
 Талассемия II: 141, 190, 200
 Талидомид I: 180–181
 Талин III: 20
 ТАТА-боксы (боксы Гольдберга–Хогнесса) II: 142–144, 162
 Тектум III: 117–121
 Телолеситальное яйцо I: 75
 Телофаза мейоза I: 23; III: 264
 – митоза I: 15
 Тельца Барра II: 111
 – Ниссля I: 162
 Темное поле (area opaca) I: 97, 131, 132
 Температура и детерминация пола III: 254
 Тенасин III: 39
 Теория ошибок в синтезе белка (катастрофы ошибок) III: 227
 – соматических мутаций III: 227
 Тератогены I: 178–182
 Тератокарцинома I: 92, 221–224; II: 186
 – инактивация X-хромосомы II: 114
 Тератология и биология развития II: 7–8
 Терминация II: 199
 Термодинамическая модель клеточной адгезии III: 13–15
 Тестостерон II: 6
 – и маскулинизация плода III: 243
 – половое созревание III: 187–189
 – развитие гонад III: 234
 – молочных желез III: 184–185, 186
 – становление поведенческих реакций у млекопитающих III: 245
 – песенного поведения птиц III: 244–245
- Тетрада (бивалент) III: 265
 Тетрациклин II: 83
 Тимопоэтин I: 215
 Тимус и глоточные карманы I: 219
 – миграция лимфоцитов III: 10
 – старение III: 224
 Тип спаривания у дрожжей II: 99
 Типы дробления см. Дробление
 Тиреотропный гормон (ТТГ) и мембранный транспорт III: 170
 – метаморфоз у амфибий III: 164–165
 – неогения III: 171
 Тироксин (Т₄) III: 163–165
 Тканеспецифическая регуляция и метилирование ДНК II: 155–156
 Тождество геномов II: 65–67
 – биохимические данные II: 92
 Топоизомеразы II: 169
 Транс-регуляторы II: 141–142, III: 302
 – активация хроматина II: 162–163
 – и нуклеосомы II: 166
 Трансгенные мыши II: 88; III: 205
 Трансдeterminация II: 69
 Транскрибируемая 3'-концевая область II: 139
 Транскрипция II: 137
 – амплификация как стратегия этого процесса II: 114–120
 – в ооцитах III: 280–281
 – процессе сперматогенеза III: 271–273
 – инициация II: 199
 – рибосомных генов II: 119–120
 – селективная II: 120–127
 – у прокариот и эукариот I: 14–16
 Трансляция II: 137
 – изменение эффективности II: 214–215
 – механизмы II: 199–202
 – разрыва (ник-трансляция) II: 91
 – у прокариот и эукариот I: 14–16
 – цитоплазматических сигналов ооцита II: 211–216
 Трансплантация, см. также Клонирование
 – конечностей III: 95, 97
 – эксперименты на гидре III: 91, 92
 – Xenopus I: 123–124
 Транспортные белки III: 20
 Транспозоны II: 100; III: 20
 Транс-регуляторы II: 141, 142
 Трансфекция II: 87, 143, 145
 Трансферрин III: 170
 Трансформирующий фактор роста (ТФР) II: 60–61, III: 208
 Трахея II: 63
 Триада Картедженера I: 38–39
 Триглицериды II: 219
 Триодтиронин (Т₃) III: 163–165, 170
 Трипсин III: 63
 Тритон, гастралля I: 129, 130
 – нейруляция I: 149
 – регенерация глаза II: 70–71
 тРНК и инициация трансляции II: 199–200
 – ооцита I: 40; III: 275
 Тройничный ганглий III: 114
 Тромбопоэтин I: 214
 Тропомозин I: 4
- Тропонин II: 189
 – и слияние миобластов I: 193
 Трофобласт I: 90, 137, 138, 140, 141
 – дифференцировка I: 93
 Трофодерма I: 90
 Трохобласт, дифференцировка клеток II: 16
 Трохофора II: 17; III: 301
 «Трубка оплодотворения» I: 21–22
 Тубулин, изоформы III: 271
 – и рост микротрубочек II: 227
 – строение микротрубочек I: 18, 38
 – образование у Naegleria I: 18
 Туловищный отдел нервного гребня I: 170
 Туникамидин I: 92
 ТФР см. Трансформирующий фактор роста
- Убиквитин II: 222
 Увомерулин I: 92
 Углеводы в клеточной мембране III: 16, 18
 Углубление бластопора III: 125
 Улитка, детерминация пола III: 255–256
 – дробление I: 83
 – закручивание раковины I: 83–85
 – метаморфоз и окружающая среда III: 182
 – рост нейронов III: 115, 116
 – раковины III: 194–197
 Устрицы, субстрат и метаморфоз III: 181
 Утка, морфогенез ноги III: 125
 Утрата генетического материала II: 99
- Фактор(ы), детерминирующий(ие) семенники III: 234**
 – ген для него III: 236–239, 241
 – дифференцировки В-клеток (ФД-В-клеток, B-CDNF) I: 214
 – ингибирующие рост III: 208–209
 – индукция плазматических клеток II: 71–73
 – индуцирующий дифференцировку (DIF) I: 30
 – полученный из тромбоцитов (ФРТ) (или тромбоцитарный фактор роста, ТФР) III: 207, 208
 – роста В-клеток (ФР-В-клеток, BCGF) I: 214, III: 71, 72
 – гемопоэтические I: 213–215
 – глины (ФРГ) III: 94
 – индукция мезодермы II: 60–61
 – КСФ-мг I: 215; II: 88–89, 205
 – нервов (ФРН) III: 114–115
 – рецепторы III: 213–215
 – фибробластов (ФРФ) II: 60; III: 207
 – эпидермиса (ФЭЭ или эпидермальный фактор роста, ЭФР) II: 131–132; III: 207
 – стимулирующий В-клетки (BCSF) III: 71, 72
 – созревание (ФСС) I: 102
 Факультативный гетерохроматин см. Гетерохроматин
 Фасцилины III: 31, 32

- Фасциляция III: 32
 Фермент(ы) выщелачивания I: 81
 — и слияние мнблостов I: 191–194
 — рассасывающий клетки лучистого венца I: 48
 — *BamHI* II: 81–84, 97
 Фетальный гемоглобин (гемоглобин плода) I: 208–209; II: 126–127
 Фиалопор I: 27, 28
 Фибробласты, изучение процессов старения *in vitro* III: 225–226
 — контактное ингибирование I: 14
 — ориентирование III: 12–13
 Фиброин шелка II: 120, 143, 191
 Фибронектин I: 114; III: 37–39
 — дифференциальный процессинг II: 188–189
 — и организация нейтральной сетчатки III: 112–113
 — развитие кожи III: 67
 — миграция клеток нервного гребня I: 173
 — опухолевых клеток I: 211
 — рецепторы к нему III: 39–42
 — роль в процессе гаструляции I: 127–129, 136
 — сайты связывания клеток III: 38
 — структурные и связывающие домены III: 38
 ФИД *см.* Фактор, индуцирующий дифференцировку
 Филаменты Nuage II: 29
 Филетические ограничения III: 305
 Филоподии I: 111
 — аксона I: 160
 Фимбрии *см.* Пили половые
 Фокомелия I: 180–181
 Фокусы трансформированных клеток III: 210
 Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) и менструальный цикл III: 286
 — овуляция III: 284
 — половое созревание III: 187
 Фолликулы яичника III: 235; 236, 285
 Фолликулярная (пролиферативная) фаза менструального цикла III: 286–287
 Фолликулярные клетки II: 6
 — амплификация генов хориона в них II: 120
 — насекомых II: 282
 Формирование пространственной организации III: 88. *См. также* Позиционная информация
 — в нервной системе III: 109–121
 — при развитии конечности III: 98–109
 — реакционно-диффузионная модель III: 107–109
 «Формообразующее стремление» (Bildungstrieb) II: 7
 Фосвитин III: 276
 Фосфодиэфирные связи и сайты ветвления II: 191, 192
 Фосфолипаза C III: 214, 215
 — активация яйца I: 64, 66–67
 — деление клеток III: 214
 Фосфолипидный бислой III: 16
 Фосфолипиды и слияние мембран I: 52. *См. также* Жидкостно-мозаичная модель
 Фосфорилаза-киназа II: 220
 Фосфорилирование белков ооцита III: 290
 — гистонов II: 221
 Фоторецепторные клетки I: 164–166
 — антигены дифференцировки III: 25
 ФРТ *см.* Фактор роста, полученный из тромбоцитов
 ФРФ *см.* Фактор роста фибробластов
 ФСГ *см.* Фолликулостимулирующий гормон
 Функции Бесселя III: 108

 Хемоаффинитета гипотеза III: 118
 Хемотаксис I: 29; III: 10
 — и миграция нейтронов III: 113–116
 — привлечение спермиев I: 42–43
 — у слизевиков I: 29–31
 Хемотаксиса гипотеза III: 113–115
 Хиазма III: 264, 265
 Химеры *см. также* Аллофенная регуляция; Аллофенные мыши
 — из клеток тератокарциномы I: 222–224
 — курица–перепел I: 217
 Хинин и врожденные аномалии I: 179
 Хлорамфениколацетилтрансфераза (ХАТ), III: 152–153
 Холинергические нейроны *см.* Нейрон(ы)
 Хондрогенез I: 195
 Хондроитинсульфат II: 6
 Хондроциты I: 190; II: 6. *См. также* Хрящ
 — изоформы I: 199
 — их основные продукты II: 6
 — и формирование кости I: 195, 197
 Хорда I: 171, 174, 177, 178
 — у амфибий I: 118–119
 — формирование в процессе гаструляции I: 118, 127, 128
 Хордомезодерма I: 119; II: 56, 61, 62; III: 67
 Хориоаллантоисная оболочка I: 200
 Хорион I: 33, 90, 140, 200, 201
 — белки II: 6, 120
 — ворсинки II: 114
 — гормоны I: 140–141
 — у близнецов I: 95–97
 Хорионаденома I: 61
 Хорионический гонадотропин I: 140
 — соматомамматропин I: 141
 Хроматиды I: 15, 23, III: 263, 264
 Хроматин III: 15, 23, II: 159–162
 — активация II: 162–163
 — диминуция II: 25
 — и интенсивность дробления I: 74–75
 — присоединение к ядерному матриксу II: 167–169
 — состояние в процессе дробления I: 101
 — структура II: 159–162
 — типы II: 110
 Хромомеры II: 66
 Хромосомные пуфы, индукция экдистероном II: 121–123
 — на полисомах II: 201
 Хромосомы, *см. также* Политенные хромосомы; X-хромосомы; Y-хромосомы
 — детерминация пола III: 233, 235–236, 246–250
 — и врожденные дефекты I: 178
 — инактивация II: 110–114
 — нумераторные элементы III: 248–249
 — перестройка и онкогенез III: 221–222
 — поведение во время мейоза I: 23; III: 263–269
 — митоза III: 15
 — прокариот и эукариот I: 12–14
 — типа ламповых щеток II: 121–123, III: 265, 271
 X-хромосома, инактивация и окрас у кошек II: 114
 — синдром Клайнфельтера I: 178
 Y-хромосома
 — гены III: 236–239
 — и мужской фенотип III: 234–239
 — образование спермиев у дрозофилы III: 271
 Хрусталик, дифференцировка I: 165, 166–169
 — индукция III: 52–54
 — вторичная II: 62
 — клетки II: 6
 — регенерация II: 70–71
 Хрусталиковые плакиды I: 163–164, 165, 166; III: 55
 Хрусталиковый пузырек I: 167
 Хрящ, *см. также* Хондроциты
 — и формирование костей I: 194–198

 ЦАТ среда III: 22
 цАМФ и дезинтеграция зародышевого пузырька III: 277
 — миграция слизевика *Dictyostelium* I: 29–31
 — регуляция созревания ооцита III: 289–290
 — как второй посредник III: 170
 Целом I: 199
 — внезародышевый I: 201
 — полости I: 199
 — способы образования, схизоцельный (шизоцельный) I: 32
 — энтероцельный I: 32
 Центральная нервная система, *см. также* Мозг; Нейроны
 — и нервная трубка I: 151–163
 — клетки нервного гребня I: 169
 — миелинизация I: 162, 163
 — поведенческие реакции, обусловленные полом III: 244–246
 — развитие поведения III: 122–124
 — формирование пространственной организации III: 109–121
 Центральный промоторный элемент II: 127
 Центролецитальное яйцо I: 75
 Центромера I: 15, 264, 245, 271
 Цефалическая складка III: 132
 Цикл мочевины III: 163, 164, 169, 170
 Циклины II: 215, 216
 Циклический аденозинмонофосфат *см.* цАМФ

- Циклогексимида II: 208
 Циклопия I: 179
 Цис-регуляторы II: 141–142, 153; III: 150–151
 Цистоциты III: 281, **282**
 Цитокинез I: 102
 Цитомегаловирус I: 178
 Цитоплазма, см. также Цитоплазматическая локализация
 — взаимодействие с ядром I: 16–18
 — и гастрюляция у амфибий I: 121–125
 — дискондальное дробление у насекомых I: 99, 101
 — у оболочников I: 88
 — яйца (ооциты) I: 39–40
 — активация генома II: 216–217
 — реорганизация и оплодотворение I: 67–69
 — содержание мРНК II: 210–216
 Цитоплазматическая локализация детерминантов половых клеток II: 24–31
 — морфогенетических детерминантов II: 14–16
 — у моллюсков II: 14, 16–19
 — сегрегация II: 5
 — у оболочников II: 9
 — спецификация у оболочников II: 8–12
 Цитоплазматические детерминанты половых клеток II: 24–30
 — полярности у дрозофилы II: 31–36
 — мостики I: 21, **23**, **28**
 — и сперматогенез III: 297
 Цитоскелет III: 317–318
 — и дробление I: 99, **100**, 102–106
 — поперечные связи III: 75
 Цитостатический фактор (CSF) I: 102; III: 278–279
 Цитотрофобласт I: **137**, 140, **141**; III: 213
 Цитохалазин В I: 103, 104; II: 10
 — и удлинение аксона I: 160, **163**
 ЦфГ-кластеры II: 157
- Человек**
 — аллометрический рост III: 197, **198**
 — врожденные дефекты I: 178–181
 — β -глобиновый ген II: 137–141
 — глоточные карманы I: 219
 — дифференцировка мезодермы I: 190
 — и вирус СПИД III: 72
 — изменение числа половых клеток в яичнике III: 274
 — инактивация X-хромосомы II: **111**, 112–114
 — клетки иммунной системы III: 70–73
 — клонирование II: 76–77
 — кровеносная система зародыша I: **204**, **206**
 — нейруляция I: **151**
 — онкогенез III: 219–223
 — оогенез III: 284–288
 — оплодотворение и имплантация I: **89**
 — первичные оогонии III: 273, **274**
 — продолжительность жизни III: 223–224
 — пубертатный период (период полового созревания) III: 187–189
 — развитие волос I: 177
 — гонад III: 234–236
 — пищеварительной системы I: 219–220
 — сетчатки I: 164
 — респираторного тракта I: 221
 — скорость клеточных делений III: 202–204
 — старение III: 223–227
 — транскрипция глобиновых генов II: 125–127
 — формирование кости I: 194–195
 — поджелудочной железы I: 220–221
 — сердца I: **204**
 — эволюция мозга I: 159–160
 Чередующееся дробление см. Дробление
 Череп, аллометрический рост III: 199–200
 Черепной отдел нервного гребня I: 170, 175
- Шванновские клетки I: 161, 162, 163**
 Шероховатый (гранулярный) эндоплазматический ретикулум, см. также Эндоплазматический ретикулум
 — синтез коллагена II: 228–230
 Шиповатый слой эпидермиса I: 175, **176**
 Шпорцевая лягушка (*Xenopus laevis*), активация генома II: 216–217
 — амплификация генов II: 116–118
 — библиотека ооцитов II: 210–211
 — гибридизация нуклеиновых кислот II: 80–81, 82
 — «дот-блоты» II: **106**
 — замаскированные мРНК II: 212
 — индукция мезодермы II: 56–60
 — карта гастрюляции I: 128
 — презумптивных зачатков I: 118–128
 — клонирование с вычитанием II: 104–105
 — локализация морфогенетических детерминантов II: **16**
 — миграция половых клеток III: 259–260
 — MM3-гомеобокс III: 156
 — перемещение глаз II: 168
 — цитоплазмы I: **68**, 69
 — переход к средней бластуле I: 118
 — регрессия хвоста у головастика III: 165–167
 — ретино-тектальная проекция III: 117–119
 — роль транскрипции при метаморфозе III: **169**
 — созревание ооцитов III: 275–277
 — специфическая для гастрюлы активность генов II: 104–105
 — сравнение с другими лягушками II: 75–74
 — TFIIIA контроль рРНК генов II: 127–130
 — формирование архентерона I: 125, **126**
 — — — — — blastopore I: 122–124
 — — — — — новых мембран I: 106
 — хроматин II: **166**
 — щелевые контакты III: 45
 — эндоплазматический ретикулум кортекса I: 57
 — энхансерные последовательности II: 146
 — эксперименты по клонированию ядер II: 74–76
 — ядерные поры II: **195**
- Щелевые контакты I: 90; III: 44–45**
 — и дробление I: 87
 — компактизация I: 90
 — морфогенез у гидры III: 93
 Щелочная фосфатаза и гаптотаксис III: 12
 — как морфогенетический детерминант II: 13–14
 Щитовидная железа и гормоны метаморфоза амфибий III: 163–170
 — дифференциальный процессинг РНК II: 188
- Эволюция, возникновение яйца амниот I: 33**
 — головного мозга I: 150–160
 — и аллометрический рост III: 200–201
 — гетерохрония III: 170–175
 — гомеозисные гены III: 157
 — дивергенция I: **31**
 — дробление I: 85–87
 — индивидуальное развитие I: 145–147
 — мужской фенотип III: 253
 — процессы индукции III: 59–60
 Экватор I: 56
 Эквивалентная группа у *C. elegans* II: 22
 Экдизон III: 179–181
 — и меристический оогенез III: 283–284
 Экдистерон II: 67; III: 179–181
 — и выворачивание у насекомых III: 177, 179
 — морфогенез у насекомых III: 179
 — хромосомные пуфы II: 121–122
 Экзон II: 137–139
 Экзоцитоз и реакция кортикальных гранул I: 55, **57**
 — как акросомная реакция I: 44
 Экспрессия гаплоидного гена II: 272
 — генов дифференциальная II: 65
 Экстрахромосомная РНК II: **118**
 Экстрахромосомные ядрышки II: **116**, **117**
 Эктодерма I: 12
 — и гастрюляция у амфибий I: 131
 — детерминация у амфибий II: 50
 — образование нервной трубки I: 147–149
 — производные I: 147, **187**
 Электрический градиент и миграция клеток III: 12
 Электрофорез II: 87
 — методы блоттинга II: 88–89
 Элемент Р II: 147, 148
 Элементы ЦААТ II: 142–144
 Элонгация II: 199–201
 Эмбриология I: 11
 Эмбриональная индукция II: 5
 Эмбриональные тельца I: 221–222
 Эмбриональный гемоглобин II: 126
 Эметин II: 208

- Эндокард I: 202, **203**
 Эндокринные железы (мозговое вещество надпочечников) как производные нервного гребня I: 169, 170
 Эндоплазматический ретикулум I: **58**
 --- белки для него II: 224
 --- и реакция кортикальных гранул I: 57–58
 Эндорфины, посттрансляционная модификация II: 219
 Эндотелиальные клетки
 --- и индукция хрусталика III: 55–56
 --- формирование кровеносных сосудов I: 205
 Эндохондральное окостенение I: 194
 Энергиды I: 99
 Энтеlexия II: 43
 Энуклеация II: 71
 --- изучение материнских эффектов II: 207–209
 --- яйца млекопитающих II: 76–78
 Энхансеры II: 139, 144–145
 --- реагирующие на гормон II: 150
 --- с регулируемой во времени активностью II: 145–146
 --- тканеспецифические II: **145**, 146–151
 Эпендимная зона нервной трубки I: 155–157
 Эпендимные клетки I: 160, **161**
 Эпибласт I: 97, 131, **132**
 --- у млекопитающих I: 137–140
 Эпифиз I: 110
 --- во время гастрюляции у птиц I: 136
 --- у амфибий I: 119, 129–131
 Эпигенез II: 7
 Эпидермис I: 175–177
 --- агрегация из суспензии клеток кожи III: 8–9
 --- базальный (герминативный) слой I: 39
 --- и клетки нервного гребня I: 169
 --- слой I: 175–176
 Эпимнокард I: 202, **203**
 Эпиморфическая регенерация III: 93, 95–98
 Эпителий легкого III: **62**, 63
 Эпителио-мезенхимные взаимодействия III: 56
 --- ближние III: 64–68
 --- во внеклеточном матриксе III: 34–35
 --- генетическая специфичность III: 57–58
 --- индукция конечности III: 80–83
 --- индукция органов III: 60–63
 --- клеточные контакты III: **66**
 --- развитие гонад III: 236
 --- молочных желез III: 184–185
 --- региональная специфичность III: 57
 Эпифиз I: **154**
 Эпифизарные пластинки, слияние I: 193
 Эритробласт I: 213
 Эритропоэз III:
 Эритропоэтин I: 213–214, 215
 Эритроциты II: 6. *См. также* Клетки крови
 --- дифференцировка I: 213, 214
 --- продолжительность жизни I: 212
 ЭРФ *см.* Эпидермальный фактор роста
 Эстрадиол III: 246
 Эстроген III: 277, **278**
 --- и дифференцировка мюллера протока III: 243
 --- менструальный цикл III: 187
 --- оогенез у амфибий III: 227
 --- поведение III: 245–246
 --- развитие гонад III: 234–236
 --- синтез овальбумина II: 123–125
 --- энхансерные элементы II: 153
 Эструс III: 284
 Эукариотический фактор инициации (эФИ, eIF) II: 199, **200**, 203–204
 Эукариоты I: 12
 --- ДНК и РНК I: 14–16
 --- колониальные I: 22–25
 --- одноклеточные I: 16–22
 Эухроматин III: 110
 Ювенильный гормон (ЮГ) III: **180**, 181–183, 283
 --- и дифференцировка особей у муравьев III: 199, 317
 --- оогенез в меронистическом яичнике III: 283
 --- прекоцены III: 183
 --- синтез III: 181, 182
 Ядерная оболочка I: 12–16, **23**
 --- и мейоз III: **268**, 269
 --- транспорт мРНК II: 195–196
 Ядерные поры, транспорт мРНК II: 195
 --- РНК *см.* яРНК
 Ядерный матрикс II: 167–169
 Ядра мозжечка I: 157
 --- контролирующие пение III: 244–245
 Ядро, адресование белков II: 225
 --- взаимодействие с цитоплазмой I: 16–18, II: 42–43
 --- возраст и старение III: 225
 --- зиготы I: 59
 --- ооцита I: **39**, 40
 --- спермия I: 37
 --- строение у эукариот I: 12–16
 --- техника микроинъекций II: 88
 --- транспорт мРНК II: 195–196
 Ядрышки как генетический маркер II: **31**, 75, **82**
 --- экстрахромосомные II: 116
 Яичники, *см. также* Менструальный цикл
 --- первичные половые клетки III: 273
 --- развитие III: **235**, 236
 Яйцевод у птиц III: 123, **124**, 125
 --- человека I: **89**
 Яйценосный буторок (cumulus oophorus) I: 40, 42
 Яйцо, *см. также* Половые клетки; Ооциты; Оогенез
 --- метаболизм и активация I: 63–67
 --- размеры I: 39
 --- строение I: 39–42
 Якорная клетка у *C. elegans* II: 22, **23**, 130, 132–133
 яРНК II: 177–178
 --- и мРНК II: 178
 --- контроль развития II: 180–183
 --- сложность II: 178–180
 Ящерицы, зависимость от температуры детерминация пола III: **254**

Оглавление

Часть III. Клеточные взаимодействия в развитии

Глава 15. Пространственная упорядоченность клеток: роль клеточной поверхности. Перевод Д. Г. Полтевой

Введение	5
Дифференциальное сродство клеток	5
Способы клеточной миграции	9
Изменения в строении клеточной поверхности	15
Дополнительные сведения и гипотезы	24
От белка к гену	24
Молекулы клеточной адгезии	25
Морфогенез путем взаимодействия между клеткой и субстратом	34
Контактные модификации и морфогенез	43
Литература	45

Глава 16. Ближние тканевые взаимодействия. Вторичная индукция. Перевод Д. Г. Полтевой

Введение	51
Инструктивные и разрешающие взаимодействия	51
Каскады межклеточных взаимодействий. Индукция хрусталика	52
Эпителио-мезенхимные взаимодействия	56
Дополнительные сведения и гипотезы	59
Развитие и макроэволюция	59
Природа ближнего взаимодействия при эпителио-мезенхимной индукции	64
Механизм ветвления при формировании паренхиматозных органов	68
Индукция плазматических клеток	70
Дополнительные сведения и гипотезы	73
Поперечные связи и индукция	73
Индукция на уровне одной клетки	76
Индукция конечности у куриного зародыша	80
Литература	84

Глава 17. Формирование пространственной организации. Перевод Д. Г. Полтевой

Введение	88
Градиентная модель позиционной информации	88
Регенерация конечности: модель полярных координат позиционной информации	93
Формирование пространственной организации в ходе развития конечностей: спецификация осей	98

Дополнительные сведения и гипотезы	105
Ретиноевая кислота и формирование пространственной организации	105
Формирование пространственной организации в нервной системе	109
Дополнительные сведения и гипотезы	121
Адреса-маркеры клеточной поверхности и миграция лимфоцитов	121
Дополнительные сведения и гипотезы	124
Морфогенез путем специфической гибели клеток	124
Литература	126

Глава 18. Генетика формирования пространственной организации у дрозофилы. Перевод А. И. Иванова

Введение	130
Краткий обзор развития дрозофилы	130
Возникновение переднезадней полярности	132
Гены с материнским эффектом	133
Компартментализация в процессе развития насекомых	139
Мутации, нарушающие число сегментов	142
Установление специфичности сегмента: гомеозисные гены	147
Регуляция регуляторов	151
Дополнительные сведения и гипотезы	157
Эволюция на основе гомеозисных генов?	157
Формирование специфического фенотипа клеток: позиционная информация	157
Литература	158

Глава 19. Клеточные взаимодействия на расстоянии. Гормоны как медиаторы развития. Перевод Д. Г. Полтевой

Введение	161
Метаморфоз. Гормональная реактивация развития	161
Метаморфоз у амфибий	162
Дополнительные сведения и гипотезы	170
Гетерохрония	170
Метаморфоз у насекомых	175
Дополнительные сведения и гипотезы	181
Конец детства; сигнал к началу метаморфоза	181
Множественные гормональные взаимодействия при развитии молочной железы	183
Дополнительные сведения и гипотезы	187
Половое созревание как вариация на тему метаморфоза	187
Литература	189

Глава 20. Рост и онкогенез. Перевод

Д. Г. Полтевой	192
Математическое описание роста	192
Проблемы роста: физические пределы роста	192
Изометрический рост	194
Аллометрический рост	197
Дополнительные сведения и гипотезы	200
Эволюция и аллометрия	200
Физиология роста органов	202
Гормоны роста и митоз	202
Факторы, ингибирующие рост	208
Онкогены и клеточный рост	209
Вирусные онкогены	209
Онкогены и клеточный рост	211
Как клеточные онкогены вступают на неверный путь	219
Старение	223
Дополнительные сведения и гипотезы	227
Механизмы старения	227
Литература	227

Глава 21. Детерминация пола. Перевод

Д. Г. Полтевой	233
Введение	233
Хромосомная детерминация пола у млекопитающих	233
Контроль детерминации пола у млекопитающих: гены Y-хромосомы	236
Гены Y-хромосомы	236
Контроль детерминации пола у млекопитающих: аутосомные гены	239
Модель первичной детерминации пола у млекопитающих	240
Вторичная детерминация пола	241
Дополнительные сведения и гипотезы	246
Развитие полового поведения	246
Хромосомная детерминация пола у <i>Drosophila</i>	246
Гермафродитизм	251
Дополнительные сведения и гипотезы	253
Почему существуют самцы	253
Детерминация пола, зависящая от условий	

обитания	254
Литература	256

Глава 22. Сага о зародышевом пути.

Перевод Д. Г. Полтевой	259
Введение	259
Образование половых клеток	259
Дополнительные сведения и гипотезы	263
Адреса-маркеры клеточной поверхности и миграции лимфоцитов	263
Дополнительные сведения и гипотезы	266
Большой выбор: митоз-мейоз или спермий-яйцо	266
Сперматогенез	269
Оогенез	273
Дополнительные сведения и гипотезы	288
Поддержание блока мейоза в ооцитах млекопитающих и выход из блока	288
Литература	290

Глава 23. Эмбриологические механизмы эволюционных изменений. Перевод

Н. О. Фоминой	294
«Единство типа и условий существования»	294
Эволюция раннего развития: E Pluribus unum	296
Морфогенетические механизмы эволюционных изменений	302
Развитие и эволюция в пределах сложившихся планов строения	304
Дополнительные сведения и гипотезы	309
Эрист Геккель и биоогенетический закон	309
Дополнительные сведения и гипотезы	319
Передача компетенции путем переноса рецепторов	319
Новый эволюционный синтез	320
Литература	322
Эпигенет. Очерк некоторых нерешенных проблем	325
Дополнительные сведения и гипотезы	327
Молекулярная биология и эмбриология	327
Литература к эпиграфам	330
Указатель латинских названий	331
Предметный указатель	333

Учебное издание

Скотт Ф. Гилберт

БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ

В 3-х томах

Том 3

Консультант редакции акад. Т. М. Турпаев
 Заведующая редакцией канд. биол. наук. М. Д. Гроздова
 Ведущий редактор М. Б. Николаева
 Редактор Р. Ф. Куликова
 Художник А. Е. Волков

Художественные редакторы **Н. М. Иванов**, Л. М. Аленичева
 Технический редактор М. А. Страшнова
 Корректор Р. Ф. Куликова

ИБ № 7427

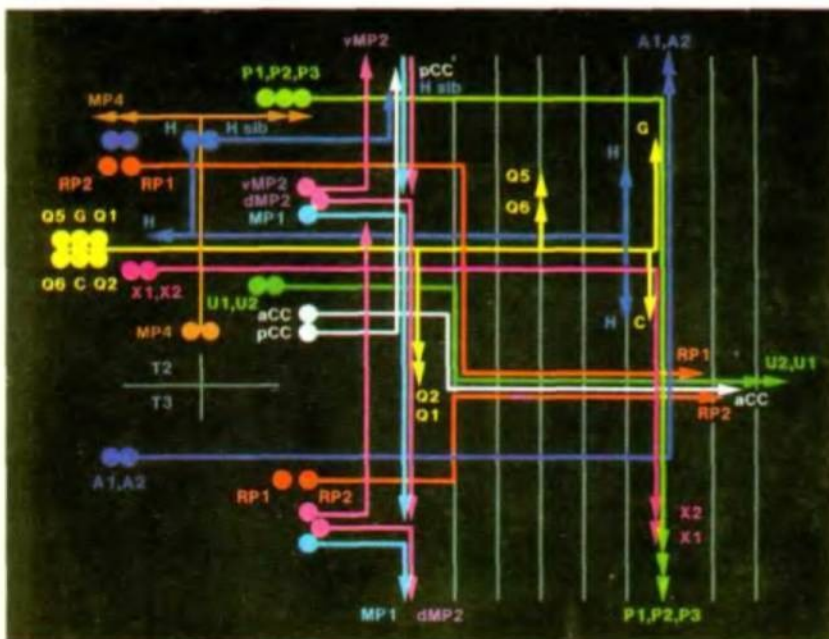
Сдано в набор 7.08.92. Подписано к печати 14.11.95. Формат 84 × 108 1/16. Бумага офсетная. Печать офсетная. Гарнитура таймс. Объем 11 бум. л. Усл. печ. л. 36,96. Усл. кр.-отт. 39,48. Уч.-изд. л. 43,08. Изд. № 4/7638. Тираж 5000 экз. Зак. 1926. С 101.

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР» Комитета Российской Федерации по печати
 129820, ГСП, Москва, И-110, 1-й Рязжский пер., 2

Можайский полиграфкомбинат Комитета Российской Федерации по печати
 143200, Можайск, ул. Мира, 93

Пути миграции аксонов у насекомых

Нейроны, ведущие свое происхождение от некоего общего предшественника (каждый клон нейронов обозначен каким-либо одним определенным цветом), образуют аксоны, которые проявляют избирательность при миграции с другими аксонами. Аксон Q1, например, движется до тех пор, пока не встретит аксон dMP2; затем их рост продолжается вместе в одном направлении. Аксон же нейрона G продолжает движение по прямой линии, пока не встретится с аксоном P1. Глава 17. (Фотография с любезного разрешения С. Goodman.)



Ретиноевая кислота и регенерация конечностей

Ретиноевая кислота заставляет регенерирующие клетки «забыть» о своем исходном местоположении. Из ткани регенерирующей кисти саламандры обычно формируется только кисть. Однако после обработки ретиноевой кислотой эта ткань (в данном случае она взята у более темноокрашенной саламандры), будучи пересажена на место ампутированной задней конечности, образует заднюю конечность. Глава 17. (Фотография с любезного разрешения К. Crawford.)



Специфическая транскрипция РНК в различных областях зародыша

Характер транскрипции гена *fliesh target* у дрозофилы можно выявить с помощью гибридизации *in situ* радиоактивной РНК, которая связывается с матрицами, образованными этим геном. Транскрипция данного гена играет решающую роль в становлении правильной сегментации тела мухи. Если этот ген не транскрибируется, то у личинок дрозофилы будут отсутствовать видимые на рисунке семь сегментов. Глава 18. (Фотография с любезного разрешения W. Gehring.)

С

лавлю Тебя, потому что я дивно устроен.

Псалом 138

К

ак новое приходит в мир? Как оно рождается?

Из каких оно создано сплавов, толкований, сочетаний?

Как ему, столь экстремальному и опасному, удастся выжить?

На какие компромиссы, какие сделки, какие измены своей
тайной природе оно должно идти,

Чтобы избежать крушения, уничтожения, гильотины?

Салман Рушди (1988)